

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Departamento de Química Analítica



**DESARROLLO DE NUEVAS TÉCNICAS PARA
DETERMINAR ACTÍNIDOS EN EXCRETAS POR
ESPECTOMETRÍA DE MASAS Y TÉCNICAS
RADIOMÉTRICAS.**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Héctor Hernández Mendoza

Bajo la dirección de los doctores

Antonio Delgado Martínez
Abel Yllera de Llano

Madrid, 2011

ISBN: 978-84-694-2282-3

© Héctor Hernández Mendoza, 2010

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Departamento de Química Analítica



**DESARROLLO DE NUEVAS TÉCNICAS PARA
DETERMINAR ACTÍNIDOS EN EXCRETAS POR
ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y TÉCNICAS
RADIOMÉTRICAS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Héctor Hernández Mendoza

Bajo la dirección de los doctores

**Dr. Antonio Delgado Martínez
Dr. Abel Yllera de Llano**

Madrid, 2010

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Departamento de Química Analítica



**DESARROLLO DE NUEVAS TÉCNICAS PARA
DETERMINAR ACTÍNIDOS EN EXCRETAS POR
ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y TÉCNICAS
RADIOMÉTRICAS**

Directores

Dr. Antonio Delgado Martínez

Dr. Abel Yllera de Llano

HÉCTOR HERNÁNDEZ MENDOZA

Madrid, 2010

Para esposa, María Judith

Para mis padres

Para la hermanos, por enseñarme que la perseverancia y el esfuerzo son el camino para lograr objetivos, por su comprensión, constante estímulo y por acompañarme en todos los momentos difíciles e importantes.

Agradecimientos

La dificultad en los problemas es directamente proporcional creatividad para resolverlos, por ello, quiero agradecer a todas aquellas personas que me han ayudado a finalizar esta etapa de mi vida.

En primer lugar a mis directores, ***Antonio Delgado Martínez y Abel Yllera de Llano*** por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad, fundamentales para la concreción de este trabajo.

A ***Elena Chamizo y Manuel García-León*** por sus valiosas sugerencias y acertados aportes durante el desarrollo de este trabajo

A ***Concepción Pérez-Conde*** por su generosidad, amistad, disposición y su desinteresada ayuda para poder concluir este trabajo.

Al servicio de Protección Radiológica del CIEMAT, en especial a ***Pilar Benito y Ana González*** por haberme ayudado en el asesoramiento de la preparación de muestras de orina.

A ***Teresa Crespo, Catalina Gascó y Antonio Aragón*** por sus asesoramientos en temas de espectrometría alfa.

A ***Marta Fernández*** por brindarme su colaboración y amistad.

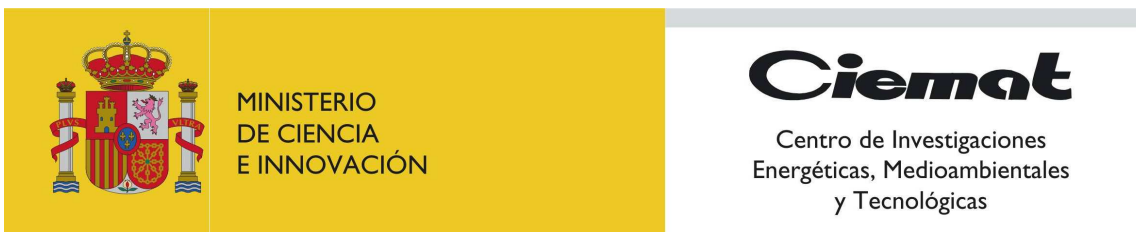
A mis amigos; ***Francisco Salamanca, José Luis Santiago, Manuel Santiago, Luis Lomba y Antonio Hurtado*** por su calidez y compañerismo al compartir inquietudes, éxitos y fracasos durante la realización de la tesis doctoral.

A mis compañeros del CIEMAT en especial a **Ana Suárez** por su continuo y afectuoso aliento

A mis amigos del CNA por su calidez y amistad durante las visitas y estancia realizadas en Sevilla.

A mis **profesores y compañeros** del Departamento de Química Analítica por su amistad y ayuda desinteresada

***“Gracias a todos los que han contribuido en mi formación
personal y humana”***



Avda. Complutense 22
28040 Madrid, España

Dr. Antonio Delgado Martínez, Investigador científico del Departamento de Medio Ambiente, Unidad de Dosimetría de Radiaciones Ionizantes del Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT).

Dr. Abel Yllera de Llano, Investigador científico del Departamento de Medio Ambiente, Unidad de Dosimetría de Radiaciones Ionizantes del Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT).

HACEN CONSTAR: que el presente trabajo titulado "Desarrollo de Nuevas Técnicas para Determinar Actínidos en Excretas por Espectrometría de Masas y Técnicas Radiométricas" ha sido realizado por el doctorando D. Héctor Hernández Mendoza en este Departamento bajo nuestra dirección, constituyendo la Tesis Doctoral de su autor.

Madrid, a 9 de Septiembre de 2010

Fdo: Dr. Antonio Delgado Martínez

Fdo: Dr. Abel Yllera de Llano

El trabajo de investigación descrito en la presente Tesis Doctoral ha sido realizado en el Laboratorio de ICP-MS Actínidos, adscrito a la Unidad de Dosimetría de Radiaciones Ionizantes del Departamento de Medio Ambiente del Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT) de Madrid, y en el Laboratorio de la Unidad de Investigación en AMS del Centro Nacional de Aceleradores (CNA) de Sevilla, fruto del Convenio de Colaboración suscrito entre CIEMAT y CNA para la Aplicación de Nuevas Técnicas para la Dosimetría de Actínidos (Ref. CIEMAT 2007/P1423).

ÍNDICE

Página

I Abreviatura...	i
II Motivación del Trabajo	iii
III Objetivos del Trabajo	v
IV Resumen.....	vi
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.....	1
1. Introducción.....	2
1.1 Dosimetría.....	3
1.1.1 Breve introducción a la radioactividad.....	3
1.1.2 Radiactividad y tipos de radiaciones ionizantes.....	4
1.1.3 El Sistema protección contra las Radiaciones Ionizantes.....	6
1.1.3.1 Necesidad de las medidas de dosis.....	8
1.1.4 Efecto sobre la Salud: Problemática de las Dosis Bajas de Radiación.....	10
1.1.5 Aplicaciones de las Radiaciones Ionizantes.....	14
1.1.6 Organización de la Protección Radiológica.....	15
1.2 Plutonio: antecedentes, influencia en los procedimientos de purificación previos al análisis cuantitativo y técnicas de análisis.....	18
1.2.1 Introducción.....	18
1.2.2 Antecedentes.....	19
1.2.3 Química e influencia en los procedimientos de purificación previos al análisis cualitativo	20
1.2.4 Técnicas de análisis.....	26
CAPÍTULO 2. CUANTIFICACIÓN DE Pu EN ORINA HUMANA: MÉTODOS ANALÍTICOS.....	28

2.1 Espectrometría Alfa (AS).....	29
2.2 Análisis de Trazas de Fisión (FTA).....	32
2.3 Espectrometría de Masas con Ionización Térmica (TIMS).....	32
2.4 Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Acoplada Inductivamente (ICP-MS).....	36
2.5 Espectrometría de Masas con Acelerador de partículas (AMS).....	49
2.6 Otras técnicas de espectrometría de masas.....	59
CAPITULO 3. EXPERIMENTAL.....	60
PARTE A: MATERIALES Y MÉTODOS.....	61
3.1 Reactivos, materiales, disoluciones estándar y muestras radiactivas de referencia.....	61
3.2 Instrumentación.....	64
3.3 Pretratamiento de las muestras de orina humana.....	67
3.4 Preparación de las muestras de orina	70
3.5 Electrodeposición.....	78
3.6 Reevaluación de planchetas: procedimientos para la recuperación del Pu electrodepositado.....	80
3.7 Preparación de los cátodos de Pu para AMS.....	81
3.8 Parámetros instrumentales en las medidas de Pu en orina.....	83
PARTE B: RESULTADOS.....	97
3.9 Medida de ²³⁹ Pu a niveles ultratrazas en muestras de orina humana usando un sistema AMS compacto de 1 MV.....	97
3.9.1 Introducción.....	97
3.9.2 Resultados.....	98
3.10 Un método altamente sensible para la reevaluación y cuantificación	

de ^{239}Pu en muestras de orina basado en Espectrometría de Masas con Aceleradores de 1 MV.....	100
3.10.1 Introducción.....	100
3.10.2 Resultados.....	101
3.11 Comparación de los métodos y la aplicación de la espectrometría alpha y de técnicas de espectrometría de masas para ^{239}Pu en muestras biológicas.....	103
3.11.1 Introducción.....	103
3.11.2 Resultados.....	104
3.12 Reevaluación de ^{239}Pu en planchetas de las muestras de orina humana en niveles ultra-trazas utilizando Aridus-HR-ICP-MS y AMS.....	106
3.12.1 Introducción.....	106
3.12.2 Resultados.....	106
3.13 Efecto matriz en las medidas de ^{239}Pu en muestras de orina por ICP-SFMS.....	123
3.13.1 Introducción.....	123
3.13.2 Resultados.....	123
CAPITULO 4. DISCUSIÓN INTEGRADORA.....	125
CAPITULO 5. CONCLUSIONES.....	137
CAPITULO 6. BIBLIOGRAFÍA.....	142
ANEXO 1.....	160
ANEXO 2.....	168

I. ABREVIATURAS

Abreviaturas	Significado en Ingles	Significado en Español
MS	<i>Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Acoplado Inductivamente
AMS	<i>Accelerator mass spectrometry</i>	Espectrometría de Masas con Acelerador de Partículas
SCI	<i>Science Citation Index</i>	Índice de Citación en Ciencia
ICRP	<i>International Commission on Radiological Protection</i>	Comisión Internacional de Protección Radiológica
ICRU	<i>International Commission on Radiation Units and Measurements</i>	Comisión Internacional de Mediciones y Unidades de Radiación
ISR	<i>International Society of Radiology</i>	Sociedad Internacional de Radiología
UNSCEAR	<i>United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation</i>	Comité Científico de Naciones Unidas para el estudio de los Efectos de la Radiación Atómica
IAEA	<i>International Atomic Energy Agency</i>	Organismo Internacional de la Energía Atómica
EURATOM	<i>The European Atomic Energy Community</i>	Comunidad Europea de la Energía Atómica
TIMS	<i>Thermal Ionization Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas con Fuente de Ionización Térmica
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
HR-ICP-MS	<i>High-Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric</i>	Espectrometría de Masas de Alta- Resolución con Fuente de Plasma Acoplado Inductivamente
ICP-SFMS	<i>Inductively Coupled Plasma Sector Field Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Acoplado Inductivamente de Sector Magnético y Colector simple
TFA	<i>Fission Track Analysis</i>	Análisis de Trazas de Fisión
RIMS	<i>Resonance Ionization Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas de Ionización Multifotónica Resonante
GDMS	<i>Glow-Discharge Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas por Descarga Luminiscente
SSMS	<i>Spark Source Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas originada por Chispa
SIMS	<i>Secondary Ion Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas de Iones Secundarios
FWHM	<i>Full Width at Half Maximum</i>	Ancho del Pico a la Mitad de la Altura
FET	<i>Field-Effect Transistor</i>	Transistor de Efecto de Campo
PTIMS	<i>Positive Thermal Ionization Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas con Fuente de Ionización Térmica de iones Positivos
NTIMS	<i>Negative Thermal Ionization Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas con Fuente de Ionización Térmica de iones Negativos
TF	<i>Fission Track</i>	Trazas de Fisión
MC-ICP-MS	<i>Multi Collector-Inductively Coupled plasma Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Acoplado Inductivamente Múltiple
FTICR	<i>Fourier transform ion cyclotron resonance</i>	Resonancia Ciclotrónica por Transformada de Fourier

AFIS	<i>Automated Flow Injection System</i>	Sistema de Inyección en Flujo Automatizado
ETV	<i>Electrothermal vaporization</i>	Vaporización Electrotérmica
FI	<i>Flow Injection</i>	Inyección en Flujo
nFI	<i>nanovolume Flow Injection</i>	Inyección en Flujo a nanovolumen
LA-ICP-MS	<i>Laser Ablation -Inductively Coupled Plasma -Mass Spectrometry</i>	Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Inducido Acoplada a un sistema de Ablación Láser
IC	<i>Ionization Chamber</i>	Cámara de Ionización
PPIS	<i>Passivated Implanted Planar Silicon</i>	Silicio de Tipo Barra de Superficie
TOF	<i>Time of Flight</i>	Detector de Tiempo de Vuelo
LOD	<i>Limit of Detection</i>	Límites de Detección
ALARA	<i>As Low As Reasonably Achievable</i>	
CIEMAT	Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas	
CNA	Centro Nacional de Aceleradores	
CSN	Consejo de Seguridad Nuclear	
m/z	masa/carga	
Bq	Bequerelio	
ADN	ácido desoxirribonucleico	
ADMDE	Absorción, Distribución, Metabolismo, Deposición y Excreción	

II. MOTIVACIÓN DE TRABAJO

Los métodos radiométricos que se emplean habitualmente para la cuantificación de radionucleidos de vida larga en muestras biológicas, en particular Pu en orinas presentan, en ocasiones, limitaciones en cuanto a los niveles mínimos detectables del analito, y también requieren un considerable tiempo para completar tanto la preparación de la muestra como las medidas propiamente dichas. El tiempo necesario por análisis total es habitualmente de 6 - 12 días y la Actividad Mínima Detectable (AMD) que puede alcanzarse es de 0,2 – 0,4 mBq/muestra (~100 - 200 fg/muestra). Debido a que la tasa diaria de excreción de los radionucleidos en muestras de orina humana es extremadamente baja o nula - en los análisis de rutina la actividad de Pu encontrada raramente excede de 1 mBq- se precisan herramientas y metodologías analíticas que alcancen límites de detección más bajos que los proporcionados por Espectrometría Alfa (*Alpha Spectrometry*, AS). Así, la motivación de este trabajo ha sido el desarrollo de nuevos métodos analíticos que puedan determinar Pu en muestras de orina a niveles de concentraciones de pocos fg, optimizando asimismo los procesos de preparación de la muestra, mejorando los límites de detección, reduciendo los tiempos de análisis (mayor productividad) y, por tanto, los costes económicos. La investigación aplicada al desarrollo de nuevas metodologías, tanto preparativas como analíticas, para la determinación de Pu en orina proporciona soporte para el control dosimétrico rutinario del personal profesionalmente expuesto, y también para el establecimiento de protocolos de aplicación rápida en situaciones accidentales.

Dentro de las técnicas de masas más potentes y eficientes para determinación de Pu isotópico se encuentran la Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Acoplado Inductivamente (*Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, ICP-MS), Espectrometría de Masas con fuente de Ionización Térmica (*Thermal Ionization Mass Spectrometry*, TIMS) y la Espectrometría de Masas con Aceleradores (*Accelerator Mass Spectrometry*, AMS). Estas técnicas de Espectrometría de Masas (*Mass Spectrometry*, MS) son extremadamente sensibles (se alcanzan niveles de concentración del orden de sub-fg de Pu por

muestra), exactas y precisas. Sin embargo, cuando el problema estriba en aplicar estas técnicas al análisis de rutina, ICP-MS y AMS aventajan en productividad a TIMS. Así, mientras que con ICP-MS ó AMS es posible analizar del orden de centenares de muestras por día, con TIMS sólo se producen unas decenas. Por consiguiente, en esta Tesis Doctoral se proponen y desarrollan nuevos métodos analíticos para el análisis de Pu en rutina basándose en ICP-MS y AMS. La parte correspondiente a ICP-MS se ha realizado en el Laboratorio de ICP-MS Actínidos (Unidad de Dosimetría de Radiaciones Ionizantes) del Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT) de Madrid, mientras que los experimentos con AMS se han realizado en la Unidad de investigación en AMS del Centro Nacional de Aceleradores (CNA) de Sevilla.

III. OBJETIVOS DEL TRABAJO

A continuación se enumeran los objetivos que se plantearon para la realización de este trabajo de investigación.

1. Creación de un laboratorio de preparación radioquímica y una sala limpia para el análisis de actínidos en excretas por ICP-SFMS.
2. Instalación y puesta a punto de la instrumentación.
3. Investigación y desarrollo de procesos para optimizar el tratamiento de la muestra de orina para el análisis de ^{239}Pu .
4. Desarrollo de métodos analíticos para medir ^{239}Pu en orina humana mediante la aplicación de técnicas de MS (ICP-SFMS y AMS).
5. Comparación de los resultados analíticos por espectrometría de masas con los resultados obtenidos en réplicas de orina mediante espectrometría alfa: ventajas e inconvenientes de cada técnica, límites de detección y actividad mínima detectable de ^{239}Pu .
6. Aplicación de ICP-SFMS y AMS a la reevaluación de planchetas con contenidos de ^{239}Pu cercanos o por debajo del límite de detección de la Espectrometría Alfa (*Alpha Spectrometry*, AS). Este aspecto es esencial cuando se requiere discriminar un falso positivo (o falso negativo) en trabajadores profesionalmente expuestos a radiaciones ionizantes.
7. Los resultados obtenidos en esta investigación servirán de apoyo al Servicio de Dosimetría Interna del CIEMAT, aportando una valiosa información para el establecimiento de protocolos de medida de ^{239}Pu , tanto en condiciones normales como de emergencia.

IV. RESUMEN

Los resultados obtenidos durante las investigaciones realizadas en esta memoria de Tesis Doctoral han permitido desarrollar nuevas metodologías para la cuantificación de Pu en orina humana para su aplicación en dosimetría personal. No obstante, antes de enumerar los logros alcanzados en este trabajo de investigación, merece la pena mencionar el intenso esfuerzo, el trabajo cuidadoso y el tiempo que fue invertido en la construcción, puesta en marcha y verificación de los nuevos laboratorios para la determinación de radionucleidos de vida larga en excretas, empresa en la que se partió desde cero y se culminó en tan solo dos años. Actualmente se dispone de un laboratorio de preparación de muestras y de un laboratorio de análisis por espectrometría de masas de alta resolución (sala limpia, clase ISO 6). Además, durante el desarrollo experimental de esta Tesis Doctoral, se utilizaron otros dos laboratorios más: una instalación radioactiva de tercera categoría, para la preparación de disoluciones radiactivas patrón, y un laboratorio para la medida de emisores alfa por AS.

También es importante subrayar que, como no podía ser de otra manera, la formación científica y técnica adquirida durante estos años ha sido determinante para poder realizar la presente Tesis Doctoral. Una formación que abarca desde el conocimiento de las diferentes técnicas de preparación de muestras biológicas, la radioquímica, así como multitud de aspectos referentes a las diferentes técnicas instrumentales empleadas.

La determinación de radionucleidos de vida larga en orina humana, en concreto isótopos de Pu, Np, U y Am, se efectúa habitualmente combinando técnicas de separación radioquímica, electrodeposición y análisis mediante AS. El tiempo necesario por análisis siguiendo esta metodología es habitualmente de dos semanas: la primera semana se dedica a la preparación de la muestra (coprecipitación → digestión ácida → separación radioquímica → electrodeposición), y durante la segunda semana se realiza el análisis por AS. Considerando los bajísimos niveles de actividad de Pu que habitualmente contienen las muestras, un tiempo de recuento menor sería inadecuado (AMD es inversamente proporcional al tiempo de recuento), ya que la incertidumbre

asociada a la medida sería inaceptable para realizar la estimación de los niveles de incorporación de Pu en el organismo. No obstante, los valores de AMD típicos en AS se encuentran en el rango de 0,2 – 0,4 Bq por muestra, con una incertidumbre asociada a las medidas de hasta el 25%.

En este trabajo se ha investigado la viabilidad de la aplicación de técnicas de MS, en particular ICP-SFMS y AMS, en la cuantificación de ^{239}Pu en orina humana y su empleo en dosimetría. Asimismo, se han comparado los resultados de estas investigaciones con los obtenidos aplicando los métodos convencionales basados en la AS (límites de detección *Limit of Detection* –LOD-, AMD, tiempos de ejecución, incertidumbre asociada a las medidas, etc.). Los avances obtenidos en esta tesis doctoral, presentan un gran interés en el campo de la Dosimetría Interna, ya que han permitido mejorar notablemente la sensibilidad analítica (LOD, AMD) de la determinación de Pu en orina cuando se comparan con la AS, así como la rapidez del análisis, tal y como se demuestra en los artículos publicados fruto de este trabajo de investigación, y que se adjuntan en la parte experimental de la Tesis. Los trabajos incluyen una serie de mejoras que se introdujeron progresivamente para conseguir una preparación eficaz de la muestra, más rápida que los métodos preparativos convencionales. Estas mejoras han permitido, a su vez, optimizar el volumen necesario de orina a tratar, normalizando los resultados al volumen total excretado en 24 h (1500 ± 400 mL). El primer tratamiento aplicado se basa en la evaporación a sequedad de alícuotas de orina en placa calefactora, en lugar de la coprecipitación y decantación clásicas. Aunque el tiempo de tratamiento depende del volumen de muestra, en cualquier caso la evaporación resulta mucho más rápida que la coprecipitación. El siguiente tratamiento consiste en la digestión ácida asistida por microondas del residuo seco de la orina, como proceso alternativo al método clásico de vía húmeda (digestión-calcinación en sistema abierto) que se utiliza rutinariamente en la preparativa de muestras para el control dosimétrico del personal profesionalmente expuesto. Finalmente, se ha desarrollado un método que aplica ICP-SFMS y AMS al análisis de planchetas cuyo contenido en ^{239}Pu se encuentra en el límite o por debajo del umbral de sensibilidad de la AS, situación en la que, como ya se mencionó anteriormente, no

es posible discriminar si una persona ha incorporado Pu a su organismo o no, ni estimar la dosis incorporada debido a la gran incertidumbre asociada a la medida, con las consiguientes consecuencias desde el punto de vista de la protección radiológica y la salud laboral (que deberán basar sus resultados de dosis efectuando otro tipo de estimaciones objetivas), e incluso de tipo legal. El método consiste en extraer, en medio HNO_3 , el Pu contenido en las planchetas de interés, previamente medidas por AS, y proceder a su reevaluación utilizando ICP-SFMS y AMS.

En el Artículo 1 se ilustra la aplicación del proceso de evaporación de orina para fracciones de muestra entre 10 y 600 ml, que fueron trazadas con concentraciones conocidas de ^{239}Pu y ^{242}Pu (este último como patrón de referencia interno), seguido de digestión ácida asistida por microondas y purificación del Pu utilizando columnas cromatográficas rellenas con resina de intercambio iónico AG1X2. La determinación de ^{239}Pu se llevó a cabo empleando un sistema AMS compacto de 1 MV. Esta investigación ha permitido determinar el volumen mínimo de orina necesario para cuantificar ^{239}Pu , obteniendo unos valores de AMD un orden de magnitud más bajos que los obtenidos por AS (13 fg de ^{239}Pu –30 μBq – para una alícuota de 25 ml). Asimismo, se redujo el tiempo de análisis a tan solo 10 horas.

En el Artículo 2 se expone la metodología desarrollada para mejorar los AMD de ^{239}Pu obtenidos por AMS, así como la puesta a punto de un nuevo método analítico para la reevaluar planchetas medidas previamente por AS. Se procesaron fracciones de orina 500 ml obtenidas a partir de muestras de 24 h. El rango de concentración de ^{239}Pu estuvo comprendido entre 2 fg y 120 fg, mientras que la concentración de ^{242}Pu fue del orden de 14 fg/muestra. Para la concentración y purificación del Pu, se empleó de nuevo el proceso de evaporación, seguido de digestión ácida asistida por microondas, separación radioquímica con resina AG1X2 y/o resina de extracción cromatografica (TEVA), electrodeposición y análisis de las planchetas mediante AS. El rendimiento radioquímico de la purificación de Pu usando resina AG1X2 fue aproximadamente del 80%, e inferior al 50% cuando se utilizó la resina TEVA. Debido al bajo

rendimiento radioquímico obtenido en las muestras con resina TEVA, ésta no fue considerada como una alternativa en la purificación de Pu para estudios posteriores. Una vez cuantificado el Pu por AS, se procedió a la reevaluación de las planchetas con AMS. Para ello, primero fue necesario extraer el Pu sumergiendo cada plancheta en HNO₃ al 5% v/v durante toda la noche. En un intento de maximizar la cantidad de Pu extraído, se investigó otro procedimiento de extracción ácida por inmersión de la plancheta en 20 ml de una mezcla de HNO₃ 2,5% v/v y HCl 2,5% v/v durante toda la noche a 25 °C, pero en este caso el excesivo aporte de Fe de la plancheta dificultó la medida por AMS. La AMD de ²³⁹Pu usando AMS fue aproximadamente de 0.44 fg/muestra, mejorando en dos órdenes de magnitud los valores de AMD obtenidos con AS para las mismas muestras (~ 50 fg/muestra), y con niveles de incertidumbre inferiores a los asociados a las medidas de AS. Los resultados de estas investigaciones fueron muy relevantes desde el punto de vista de la dosimetría interna, ya que es la primera vez que se emplea un AMS de 1 MV para realizar el control dosimétrico del personal profesionalmente expuesto mediante la reevaluación de planchetas. Los resultados de estas investigaciones demuestran que AMS es una técnica aplicable al análisis de Pu en orina humana con fines dosimétricos, tanto en situaciones normales como de emergencia. Gracias a su gran sensibilidad, AMS permite analizar el contenido de Pu en pequeños volúmenes de orina, lo que contribuye a agilizar el análisis. Asimismo, AMS se consolida como una alternativa fiable a la AS en aquellas situaciones en las que el contenido de ²³⁹Pu se encuentra en el límite o por debajo de los niveles mensurables por AS. Este hecho reviste una gran importancia en la evaluación dosimétrica del personal profesionalmente expuesto a las radiaciones ionizantes, contribuyendo de manera inequívoca al esclarecimiento de situaciones ambiguas.

El siguiente paso en la investigación consistió en la aplicación de ICP-SFMS a los bioensayos de Pu en orina humana y comparar los resultados con AMS y AS. Se utilizó un instrumento Element-XR (Thermo Fisher Scientific) que, en principio, fue adquirido por su elevada resolución, sensibilidad y precisión en análisis isotópico de U para el análisis de rutina de U en excretas del personal

profesionalmente expuesto. El equipo fue instalado en un laboratorio construido a principios del año 2009 en la sede del CIEMAT de Moncloa (Madrid), el cual cumple con las especificaciones de sala limpia clase ISO 6. La metodología aplicada y los resultados de esta investigación se detallan en el Artículo 3. En él se comparan dos metodologías: la desarrollada durante este trabajo de investigación, basada en la evaporación de la muestra a sequedad, frente a la coprecipitación, que es la aplicada habitualmente en las rutinas analíticas de bioensayo. Se ha investigado la influencia del diámetro de partícula de la resina en el rendimiento radioquímico del proceso mediante el empleo de dos resinas de intercambio iónico: Biorad AG1X2 (50-100 mesh) y AG1X8 (100-200 mesh). Finalmente, en el artículo se comparan los resultados obtenidos aplicando las técnicas de ICP-SFMS y AMS a la reevaluación de planchetas cuyo contenido en ^{239}Pu fue previamente cuantificado con AS.

Para realizar esta comparación de métodos analíticos se utilizaron muestras de la primera orina de la mañana, que fueron trazadas con concentraciones conocidas de ^{239}Pu (analito) y ^{242}Pu (patrón interno). El volumen fue normalizado a excreción de 24 h (1500 ± 400 ml). Se emplearon un total de 12 muestras, con un volumen promedio de 370 ± 56 ml de orina. Las muestras fueron divididas en dos grupos en los que se ensayaron, respectivamente, el proceso de evaporación y coprecipitación. Las muestras fueron subdivididas nuevamente en dos grupos para realizar la separación radioquímica de Pu con las resinas AG1X2 y AG1X8. En síntesis, los resultados más relevantes en este estudio fueron los siguientes:

- El proceso de evaporación ha sido verificado frente al de coprecipitación, cumpliendo con los requisitos necesarios para su aplicación en bioensayos rutinarios de Pu en dosimetría interna.
- La recuperación de Pu fue similar con ambas resinas (alrededor del 76%), pero la demanda de tiempo con AG1X8 es mucho mayor.
- La optimización del proceso de extracción de Pu contenido en las planchetas, que fue realizado por inmersión de cada plancheta en una mezcla de HNO_3 2,5% v/v y HCl 2,5% v/v a 60°C durante 1 h, produjo recuperaciones de Pu del orden del 90%, y resulta adecuado para

realizar, en caso de necesidad, reevaluaciones de planchetas mediante AMS o ICP-SFMS.

- Los resultados demuestran la aptitud de las técnicas de ICP-SFMS y AMS aplicadas a la dosimetría interna de Pu. Permiten realizar análisis rápidos y precisos, mejorando notablemente los valores de la AMD que pueden obtenerse con la AS. Así, la AMD de ^{239}Pu alcanzada con AS fue de $50,9 \pm 5,6$ fg de ^{239}Pu /muestra, mientras que con ICP-SFMS la AMD fue de $23,4 \pm 0,9$ fg de ^{239}Pu /muestra, y para AMS fue de $0,44 \pm 0,16$ fg de ^{239}Pu /muestra. Con la configuración descrita en el artículo 3, ICP-SFMS reduce a la mitad la AMD para AS, pero con una incertidumbre asociada mucho menor (3,8% frente al 11%). Estos resultados se podrían mejorar en un orden de magnitud, aproximadamente, acoplado un desolvatador de membrana a la entrada de muestra del ICP-SFMS. Esta mejora es objeto del estudio descrito en el artículo 4.
- Durante las medidas de Pu por ICP-SFMS se utilizó ^{237}Np como patrón externo para verificar la estabilidad del instrumento, con resultados excelentes. El objeto de esta elección fue utilizar un isótopo que se encontrase en el rango de masas de los actínidos (pero que no interfiera con las masas 239 y 242) evitando grandes desplazamientos del campo del imán –cosa que ocurriría si utilizásemos el In como patrón ($^{115}\text{In} = 95,7\%$) con el consiguiente ahorro de tiempo en el análisis.
- La consistencia de los resultados obtenidos es excelente, confirmando la aptitud de las metodologías y técnicas propuestas en este trabajo para su aplicación en dosimetría. Más aún, la elevada sensibilidad de las técnicas de espectrometría de masas aplicadas en esta investigación y la aptitud de los métodos propuestos, abren nuevas fronteras para la cuantificación de ^{239}Pu en muestras de orina cuya concentración se encuentre en valores iguales o inferiores a la AMD

mediante AS, situación que es de una gran relevancia en el área de la dosimetría personal interna.

En Artículo 4 es la continuación de las investigaciones iniciadas en el Artículo 3. El objetivo fundamental fue mejorar los valores de la AMD de ^{239}Pu en orina humana por ICP-SFMS, comparando los resultados con los obtenidos por AMS en réplicas de orina. Para ello se acopló al ICP-SFMS un desolvatador de membrana (Aridus, CETAC Technologies). Durante este estudio se emplearon muestras de orina de 24 horas, y se procedió con la misma metodología que la aplicada en el artículo 3. El AMD de ^{239}Pu obtenido con el acoplamiento Aridus-ICP-SFMS fue de aproximadamente 3 fg de ^{239}Pu /muestra, frente a los 0,44 fg de ^{239}Pu /muestra que se obtuvieron con AMS.

Otro objetivo de esta Tesis Doctoral era el desarrollo de un método analítico rápido para cuantificar ^{239}Pu en orina, que pudiera aplicarse en situaciones de emergencia o de accidente nuclear. Por tanto, la primera aproximación al problema fue investigar la posibilidad de realizar un análisis directo del contenido de Pu en orina humana por ICP-SFMS, con un mínimo tratamiento preparativo, estudiar el efecto de la matriz en la sensibilidad y determinar los LODs de ^{239}Pu en cada caso. La metodología y los resultados de estas investigaciones se presentan en la contribución realizada al Congreso Internacional de Espectrometría de Masas que se llevo acabo en Bremen, Alemania. En síntesis, se emplearon fracciones de orina de 24 h (en un rango de 10 - 200 ml), que fueron marcadas con concentraciones conocidas de ^{239}Pu (analito), ^{242}Pu (estándar interno) y ^{237}Np (estándar externo). A continuación, las fracciones fueron evaporadas a sequedad y seguidamente se procedió a su digestión ácida (microondas). Con este método, la preparación de la muestra requiere solamente de unas 5 horas, y la productividad del mismo está condicionada por el número de muestras que se pueden digerir simultáneamente (10 muestras en nuestros laboratorios). Una vez digeridas las muestras, se procedió al análisis de ^{239}Pu , ^{242}Pu y ^{237}Np por ICP-SFMS mediante el método de calibración externa. La construcción de las rectas de calibrado se realizó con patrones preparados en el mismo tipo de matriz que las muestras. Asimismo, se utilizaron las matrices de orina sin marcar

correspondientes para la para la determinación del LOD en cada caso. Los resultados indicaron que, al contrario que ocurre con el análisis de U, el efecto matriz afecta enormemente a la señal del ^{239}Pu y, por consiguiente, al LOD. La alternativa que se propone para tratar de disminuir el efecto matriz de la orina y mejorar el LOD de ^{239}Pu es analizar muestras de orina con un mayor factor de dilución. Este aspecto será objeto de futuros estudios de viabilidad.

Por último, podemos concluir que en los trabajos presentados en esta Memoria de Tesis Doctoral, ofrece nuevos métodos alternativos para la determinación de ^{239}Pu en orina, los cuales han supuesto un avance sustancial en el área de la Dosimetría Interna para el control rutinario del personal profesionalmente expuesto a las radiaciones ionizantes, y de los miembros del público en situaciones de emergencia radiológica.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1. Introducción

La presente Memoria de Tesis Doctoral presenta los resultados obtenidos en un proyecto de investigación sobre la aplicación de métodos avanzados de MS para la cuantificación de niveles bajos y ultra-bajos de actínidos en orinas de trabajadores expuestos, por razón de sus cometidos profesionales, a riesgo de contaminación interna por estos radionucleidos. El trabajo que ahora se describe se ha desarrollado en el contexto de la mejora de la calidad de las medidas que son legalmente requeridas para proteger la salud de los trabajadores frente a los riesgos que suponen esas contaminaciones, alcanzando a conseguir mejorar los niveles mínimos de actividad radiactiva detectables mediante las técnicas convencionales de AS, niveles que son considerados insuficientes en el rango de las dosis bajas. Se han desarrollado además procedimientos específicos de preparación radioquímica de orinas para su medida tanto en ICP-MS como en AMS, procedimientos que han demostrado ser adecuados a sus fines y más rápidos en su aplicación que los convencionales para AS.

Los trabajos se han desarrollado en el laboratorio del ICP-MS de la Unidad de Dosimetría del CIEMAT, laboratorio de nueva implantación, así como en los laboratorios del CNA de Sevilla en lo que respecta a las medidas y determinaciones por AMS. Los resultados que se fueron obteniendo en las sucesivas etapas de desarrollo del proyecto de Tesis Doctoral han sido publicados en revistas de difusión internacional adscritas al Índice de Citación en Ciencia (*Science Citation Index*, SCI), así como objeto de presentaciones en congresos científicos nacionales e internacionales.

En lo que sigue en esta introducción se describirán tanto la problemática de las radiaciones, su empleo en las sociedades tecnológicas y los riesgos que ese empleo comporta, como la manera de proteger y limitar esos riesgos, todo esto con el objeto de establecer el marco y el entorno en el que el presente trabajo fue propuesto y en que se ha desarrollado, así como para mejor entender e interpretar la utilidad y el interés de los resultados obtenidos y su relevancia para la protección de los trabajadores expuestos a riesgos de contaminación interna por actínidos emisores de radiación alfa. Asimismo, se explica de una forma breve y concisa los de métodos analíticos desarrollados

que son usados en la determinación de los radionucleidos de Pu en muestras de orina humana.

1.1 DOSIMETRÍA

1.1.1 Breve introducción a la radioactividad

El descubrimiento de la radiactividad fue realizado accidentalmente por Henri Becquerel en 1896 durante una investigación sobre la fluorescencia. Becquerel observó que unas placas fotográficas guardadas en un cajón junto con sales de U se habían velado, aparentemente, por el efecto de las radiaciones emitidas por dichas sales. El año anterior, el físico alemán Wilhelm Röntgen había descubierto los rayos X durante sus investigaciones sobre los rayos catódicos, descubrimiento por el que fue galardonado con el Premio Nobel de Física en 1901. En 1898, el matrimonio Pierre y Marie Curie, profundizando en las investigaciones del fenómeno descubierto por Becquerel, encontraron que otra sustancia, llamada Th, emitía el mismo tipo de radiación que el compuesto de U y encontró nuevos elementos radiactivos a los que denominó Po y Ra. Las emisiones producidas por estos y otros elementos naturales, llamados radionucleidos (o radioisótopos- los dos términos son sinónimos en este contexto), constituyen lo que se conoce como radiactividad natural y su existencia data desde el origen de la Tierra. Todos estos descubrimientos supusieron una revolución mundial en el campo de la Física y tuvieron importantes aplicaciones en el campo de la Medicina. Así, en reconocimiento a sus investigaciones, los esposos Curie junto con Becquerel fueron galardonados con el Premio Nobel de Física en 1903. En esa misma época, el físico británico Ernest Rutherford consiguió identificar los tres tipos de radiaciones y determinar su poder de penetración, denominándolas alfa, beta y gamma. Rutherford propuso también un modelo de átomo constituido por un núcleo de carga positiva alrededor del cual orbitarían los electrones, de carga negativa. Más tarde, en 1934, los esposos Joliot-Curie (Jean Frédéric e Irene) descubrieron la radiactividad artificial, por lo que recibieron el Premio Nobel de Química en 1935. Sin embargo, fue Enrico Fermi, Premio Nobel de Física en 1938, quien construyó el primer reactor nuclear, el “Chicago-I”, logrando la primera reacción nuclear controlada.

1.1.2 Radiactividad y tipos de radiaciones ionizantes

Algunos núcleos, cuya relación carga/masa se encuentra fuera de unos ciertos límites, experimentan espontáneamente cambios en su estructura nuclear, modificando su carga o su masa para aumentar su estabilidad. Durante estas transformaciones, el núcleo desprende energía en forma de radiaciones, propiedad que conocemos con el nombre de radiactividad. Este proceso de transformación puede ser de origen natural o bien inducido artificialmente. Las sustancias que poseen esta propiedad se denominan radiactivas. La unidad de medida en el Sistema Internacional es el Bequerelio (Bq), que equivale a una desintegración por segundo.

La radioactividad es, por tanto, un fenómeno físico por el cual las sustancias radiactivas emiten radiaciones ionizantes desde el núcleo de los átomos. Las radiaciones ionizantes son aquellas que, debido a la energía que poseen, producen ionizaciones en la materia (es decir, cambios eléctricos a nivel molecular) cuando interaccionan con ella. Estas emisiones, de las cuales hay que protegerse adecuadamente, pueden presentarse en forma de partículas (naturaleza corpuscular) ó de ondas (naturaleza ondulatoria). La radiación de naturaleza corpuscular está formada, entre otras, por emisiones alfa con carga eléctrica positiva (α^+), emisiones beta negativa (β^-) y beta positiva (β^+). Las partículas alfa, tienen un recorrido muy pequeño en el medio en el cual inciden, por ello no presentan riesgo cuando actúan desde el exterior del organismo humano pero sí en caso de su incorporación al mismo, ya que poseen un gran poder de ionización en una distancia muy corta. Las partículas beta son mucho más ligeras que las alfa y, por tanto, tienen un mayor poder de penetración.

Dentro de la radiación de naturaleza ondulatoria (ondas electromagnéticas) está la radiación gamma (γ) y los rayos X, con un importante poder de penetración que depende de la energía asociada a cada tipo de onda (Figura 1.1).

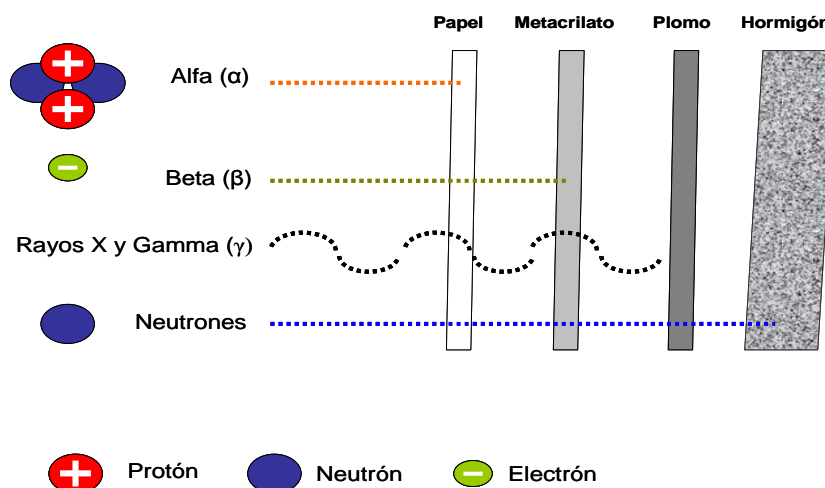


Figura 1.1 Tipos de radiaciones ionizantes

La diferencia fundamental con los rayos gamma es su origen. Los rayos gamma son radiaciones de origen nuclear que se producen por la desexcitación de un nucleón de un nivel excitado a otro de menor energía y en la desintegración de isótopos radiactivos, mientras que los rayos X surgen de fenómenos extranucleares, a nivel de la órbita electrónica, fundamentalmente producidos por desaceleración de electrones. Los neutrones se producen mediante reacciones nucleares, estos tienen mayor capacidad de penetración que los rayos gamma y sólo pueden ser detenidos mediante gruesas barreras de hormigón, agua o parafina.

Durante toda nuestra vida estamos inmersos en un medio, en el cual convivimos con un determinado nivel de radiación. El origen de la exposición a la radiación en humanos y en los seres vivos se debe a fuentes de origen natural o artificial. La radiación cósmica del espacio o los elementos radioactivos en el suelo natural constituyen fuentes de radiación natural. Los productos de consumo, equipos industriales, residuos radiactivos, bombas atómicas, satélites, reactores nucleares y, en menor grado, los residuos de hospitales, constituyen fuentes de radiación creadas por el hombre.

En la Figura 1.2 se representa la contribución a la dosis efectiva por persona y año de las radiaciones ionizantes naturales y artificiales. Puede observarse que la mayor contribución corresponde al fondo natural y, dentro de éste, la mitad es debida al Rn y sus descendientes. El Rn tiene su origen en la desintegración radioactiva del U y del Th. Las cadenas de desintegración de

estos elementos generan el Ra, que es el elemento precursor del Rn. Las radiaciones ionizantes se utilizan, entre otros muchos campos, en la investigación, la industria y en el área sanitaria desde la triple vertiente diagnóstica, investigadora y terapéutica.

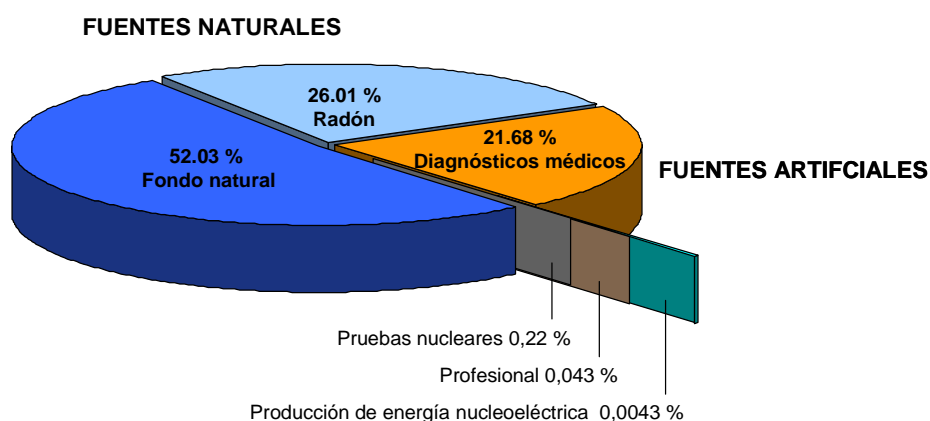


Figura 1.2 Contribución de las diferentes fuentes radioactivas naturales y artificiales en dosis efectiva por persona y año [1].

1.1.3 El Sistema protección contra las Radiaciones Ionizantes

Hay muchos factores que determinan los efectos de las radiaciones ionizantes en los seres vivos, tales como el tipo y energía de la radiación, la duración de la exposición a la radiación ionizante y, finalmente, la naturaleza de esa exposición, que puede ser externa o interna. Existen, además, otros factores a considerar tales como las características físicas de la persona expuesta, la edad, sexo, dieta, estilo de vida, etc. La Dosimetría de las Radiaciones Ionizantes es la rama de la ciencia que se ocupa de la medida de la dosis absorbida por un material o tejido como consecuencia de su exposición a las radiaciones ionizantes presentes en un campo de radiación. La dosis absorbida se define como la energía absorbida por unidad de masa y depende de la naturaleza y características del campo de radiación, del material o tejido irradiado y de los complejos procesos de interacción materia-radiación. Cuando el objeto de la medida de dosis es el cuerpo humano, se habla de Dosimetría Personal y su finalidad es, en este caso, prevenir o limitar la aparición de efectos nocivos producidos por la radiación.

La Dosimetría Personal comprende dos modalidades complementarias pero claramente diferenciadas: la dosimetría de la radiación externa y la dosimetría de la contaminación interna. La Dosimetría Personal Externa se utiliza en las situaciones en las que la irradiación se produce por fuentes externas al organismo humano y se realiza de forma práctica, mediante el uso de dosímetros personales. La Dosimetría Personal Interna se utiliza en las situaciones que exigen la evaluación de la Dosis Efectiva recibida por personas que han incorporado material radiactivo al organismo por vía de inhalación, ingestión, inyección, a través de heridas o de la piel (Figura 1.3).

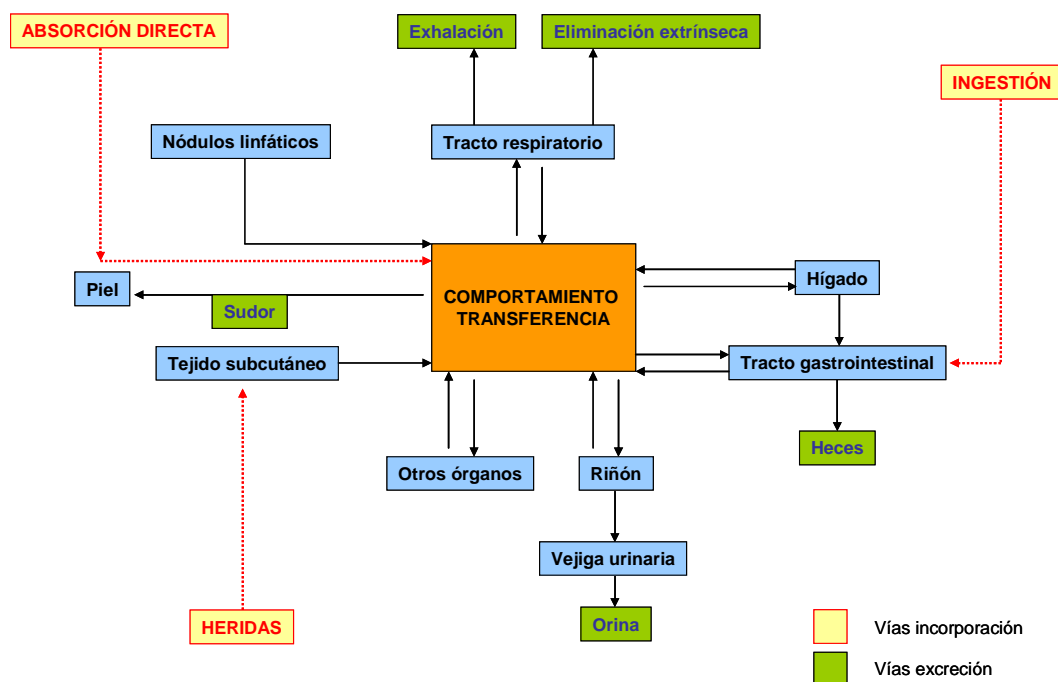


Figura 1.3 Resumen esquemáticamente las distintas vías de incorporación, transferencia y excreción de radioisótopos, a través de cual se inicia el proceso y fases de la llamada serie ADMDE (Absorción, Distribución, Metabolismo, Deposición y Excreción) [2].

Gracias a la Dosimetría Personal, es posible detectar desviaciones de las condiciones de seguridad en el área de trabajo, contribuyendo eficazmente a la mejora del diseño de los protocolos de operación en las instalaciones radioactivas [3]. Por tanto, la Dosimetría Personal protege a los trabajadores de los posibles riesgos que se deriven de su actividad laboral, partiendo de las especificaciones en cuanto a límites de dosis, de manera que se cumpla la

conformidad de dichas dosis con los estándares y con las regulaciones vigentes. En España, el organismo regulador es el Consejo de Seguridad Nuclear (CSN), cuyas funciones principales son: vigilar la calidad radiológica del medio ambiente; conceder licencias al personal que opera en instalaciones nucleares o radiactivas; informar sobre proyectos de instalaciones; controlar el funcionamiento de las instalaciones; actuar en caso de emergencia; controlar la dosis de radiación que puedan recibir tanto los trabajadores expuestos como la población en general; realizar y promover planes de investigación; proponer reglamentación y normativa; informar a la opinión pública y a las Cortes; mantener relaciones con la Administración del Estado; y mantener relaciones con otros organismos similares.

Los Laboratorios de Dosimetría de CIEMAT (Contador de Radiactividad Corporal y Laboratorio de Bioeliminación), constituyen el Centro Nacional de Referencia para la Dosimetría Personal Interna del personal profesionalmente expuesto y están regulados por este organismo. Estos Laboratorios son los encargados de realizar los controles pertinentes, notificando al CSN los resultados.

1.1.3.1 Necesidad de las medidas de dosis

Ya se ha hecho mención a la necesidad de cuantificar la “cantidad de radiación” o la dosis recibida por las personas, para estimar, reducir riesgos y optimizar los beneficios que se pueden derivar de las numerosas aplicaciones industriales y médicas de las radiaciones. El esquema de protección junto a la justificación y a la optimización de las prácticas con radiaciones propone la limitación de las dosis como uno de los principios básicos de la Protección Radiológica [4]. Por todo ello, la dosimetría, tanto la medida como el cálculo de dosis, son una parte esencial de la protección radiológica, necesaria para poder estudiar aspectos básicos como la relación dosis-efecto, pero también para comprobar o demostrar que se está cumpliendo con la obligación legal de limitar las dosis a los trabajadores profesionalmente expuestos a radiaciones y también al público en general. En el **Anexo 1** se describe con mayor detalle este sistema, ciertamente complejo, de protección radiológica.

En términos más bien intuitivos se ha introducido anteriormente el concepto “dosis” como la “cantidad de radiación” a la que un objeto, el cuerpo

humano por ejemplo, es expuesto. Realmente desde el punto de vista tanto de la inducción de efectos y de cómo evitarlos, lo que importa no es exactamente la cantidad de radiación sino la cantidad de energía que ese objeto absorbe del campo de radiación al que está expuesto. Esa energía, absorbida inicialmente por procesos de ionización de los átomos y moléculas del objeto irradiado, el cuerpo humano en concreto, será la causante de los efectos finales que puedan detectarse a causa de la exposición, en particular efectos sobre la salud de las personas. Debido a estas consideraciones la magnitud fundamental en dosimetría de radiaciones es la “dosis absorbida”, que se define precisamente como la energía absorbida por unidad de masa.

Si la definición de la dosis absorbida parece simple, en el caso de la dosimetría para protección radiológica es necesario hacer determinadas consideraciones que tornan la situación ciertamente compleja [5-6]. La complejidad mayor viene no por la medida de la dosis absorbida, sino por el hecho de que desde el punto de vista de la producción de efectos sobre la salud los diferentes tipos de radiaciones tienen una incidencia o una eficiencia diferente. Así un mismo valor de dosis absorbida por radiación alfa o por neutrones, se estima puede llegar a ser un factor veinte veces más eficaz para la producción de efectos sobre la salud que si ese valor de dosis se debiera a radiación X o gamma. Además los diferentes órganos del cuerpo humano también tienen radiosensibilidades diferentes: diferente probabilidad de efectos por unidad de dosis absorbida. Todo esto hace que la dosis absorbida, por si sola, no sea adecuada para proteger frente a riesgos especialmente en el rango de las dosis bajas.

La inadecuación de la dosis absorbida para la estimación de riesgos ha generado la necesidad de definir magnitudes dosimétricas específicas para protección radiológica, la dosis efectiva y la dosis equivalente que se describirán en el **Anexo 2**, en cuya definición se incluyen factores de ponderación de la naturaleza de la radiación y también para los diferentes órganos y tejidos. Las diferencias en la producción de efectos entre los varios tipos de radiación y en los diferentes tejidos vienen en buena medida causadas por los procesos microscópicos a nivel celular, en particular los de reparación, que pueden ser mas o menos eficaces dependiendo de la densidad microscópica de ionización causada por la radiación, muy alta en el caso de

neutrones o partículas alfa y mucho menor en el caso de fotones. Roturas simples en las cadenas de ácido desoxirribonucleico (ADN) pueden ser reparadas con facilidad y precisión, pero roturas más complejas, fruto de ionizaciones múltiples correlacionadas espacial y temporalmente, lo son con más dificultad pudiendo producir correcciones defectuosas que pueden dar lugar a células mutadas, viables y de desarrollo errático [7]. La diferente radiosensibilidad de los órganos y tejidos está relacionada con la mayor o menor complejidad o grado de evolución de sus cadenas de ADN.

En buena medida, la dificultad de la dosimetría con fines de protección radiológica radica, en la necesidad de incluir términos físicos y biológicos en la propia definición de las magnitudes de medida de dosis. La dosis absorbida es una magnitud puramente física, cociente de dos magnitudes en principio medibles, como son la energía y la masa en la que ésta se absorbe. Por el contrario, los factores de ponderación de radiación y de tejido u órgano sobre los que se basan las magnitudes para radioprotección, son esencialmente estimaciones de la eficiencia radiobiológica de las radiaciones, que provienen de estudios que no han producido aún datos definitivos y, que precisan por tanto de investigación.

Dificultades añadidas provienen de la conveniencia de definir una única magnitud para radioprotección, sencilla y medible, válida para situaciones muy diferentes y en las que pueden verse involucrados órganos y tejidos con radiosensibilidad muy diferente. Todas estas dificultades están en la base de las sucesivas revisiones habidas en las magnitudes para protección, en los coeficientes de corrección y también en los límites de dosis.

1.1.4 Efecto sobre la Salud: Problemática de las Dosis Bajas de Radiación

La exposición a radiaciones puede dañar los organismos vivos, ocasionando diferentes tipos de alteraciones en función del tipo de radiación, de la dosis recibida, del tiempo de exposición y de la sensibilidad del receptor. Los efectos biológicos debidos a las radiaciones ionizantes provocan cambios sucesivos a nivel molecular, celular, tisular e incluso a nivel global del organismo [8].

Los efectos biológicos de las radiaciones derivan del daño que éstas causan a la estructura química de las células, la más pequeña unidad de la

materia viva capaz de existir independientemente. El daño se ocasiona fundamentalmente en el ADN, que se encuentra en el núcleo celular y es el encargado de transmitir la información que pasa de una célula a su descendencia. Los daños más preocupantes son los que afectan a las células madre, incluyendo diversos tipos de daño en los genes, tales como rupturas cromosómicas, deleciones o recombinaciones de genes, a las que de modo global se denominan mutaciones del ADN o mutaciones genéticas.

Los efectos perjudiciales producidos por dosis altas de radiación, que pueden llegar a producir la muerte de los individuos expuestos, se denominan efectos deterministas, en razón de la relación de causa-efecto bien definida entre la dosis recibida y los efectos clínicos subsiguientes, que además suelen aparecer de manera inmediata. Estos efectos son bien conocidos y están suficientemente caracterizados: a dosis altas de radiación se induce la muerte de un gran número de las células afectadas.

Aunque un cierto número de ellas puede ser reemplazado por mecanismos de reparación de la propia célula, si la población afectada es excesivamente alta se pueden producir daños irreversibles en los órganos afectados o incluso la muerte del organismo expuesto si las lesiones afectaran a órganos vitales. Los efectos deterministas presentan típicamente un umbral de dosis por debajo del cual no llegan a manifestarse. Este umbral, variable según el tipo de patología, se correlaciona con la capacidad de regeneración celular. Los estudios realizados sobre diferentes colectivos expuestos a radiaciones de forma accidental o crónica, demostraron la existencia de una incidencia para diversos tipos de cánceres superior a los detectados en poblaciones no expuestas, incluso para valores moderados y bajos de dosis.

Esos estudios se realizaron fundamentalmente sobre los sobrevivientes a los bombardeos nucleares de Hiroshima y Nagasaki y sobre otros colectivos como los trabajadores de la minería del Uranio [9-10].

Estos efectos, que se manifiestan transcurrido un cierto tiempo, a veces décadas después de ocurrida la exposición, se denominan efectos

estocásticos, probabilísticos, tardíos o a largo plazo. Entre los efectos estocásticos de la radiación se encuentran el cáncer y los efectos hereditarios.^a

Según esta definición, no hay dosis por pequeña que sea que no implique algún riesgo de cáncer en el futuro. No hay evidencia segura de que existan umbrales de dosis para tales efectos, y de hecho, las recomendaciones actuales de la Comisión Internacional de Protección Radiológica (*International Commission on Radiological Protection*, ICRP) no aceptan la existencia de dosis seguras respecto de la inducción de efectos estocásticos, asumiendo una dependencia lineal sin umbral para la probabilidad de su ocurrencia [2].

En la Figura 1.4 se incluyen un grupo de procesos con influencia en la aparición final de efectos estocásticos a bajas dosis, partiendo de un daño inicial. Si la irradiación no llega a causar daños irremediables, los mecanismos celulares de reparación tratarán de corregir las alteraciones en el ADN. El resultado de esta acción de reparación puede ser la restauración de la célula a su situación normal, merced a una reparación perfecta. Pero puede ocurrir que la reparación sea defectuosa, produciendo una célula viable, pero transformada o mutada, que puede ser el origen de un efecto posterior, de naturaleza estocástica. Los mecanismos de reparación pueden igualmente causar la muerte de la célula afectada, a través del proceso de apoptosis o muerte celular programada, que opera sobre células identificadas como anómalas. Si el número de células eliminadas por este proceso es limitado, éstas podrán ser sustituidas por otras nuevas sin mayor problema. Los efectos estocásticos están pues relacionados con la posibilidad de que a causa de la irradiación se generen células con mutaciones en su ADN, viables y no eliminadas por los procesos de apoptosis para la muerte celular programada.

^a Los efectos estocásticos son aquéllos cuya probabilidad de ocurrencia se incrementa con la dosis recibida, así como con el tiempo de exposición. No tienen una dosis umbral para manifestarse. Pueden ocurrir o no ocurrir; no hay un estado intermedio. La inducción de un cáncer en particular es un efecto estocástico. Su probabilidad de ocurrir depende de la dosis recibida; sin embargo, no se puede asegurar que el cáncer se presente, menos aún determinar una dosis. La protección radiológica trata de limitar en lo posible los efectos estocásticos, manteniendo las dosis lo más bajas posible. En los efectos no estocásticos la severidad aumenta con la dosis, y se produce a partir de una dosis umbral. Para dosis pequeñas no habrá efectos clínicamente detectables. Al incrementar la dosis se llega a niveles en que empiezan a evidenciarse, hasta llegar a situaciones de gravedad. Para estos casos la protección consiste en prevenir los efectos, no excediendo los umbrales definidos en cada caso. Las quemaduras caen en esta categoría

EFFECTOS DE LA RADIACIÓN IONIZANTE A NIVEL CELULAR

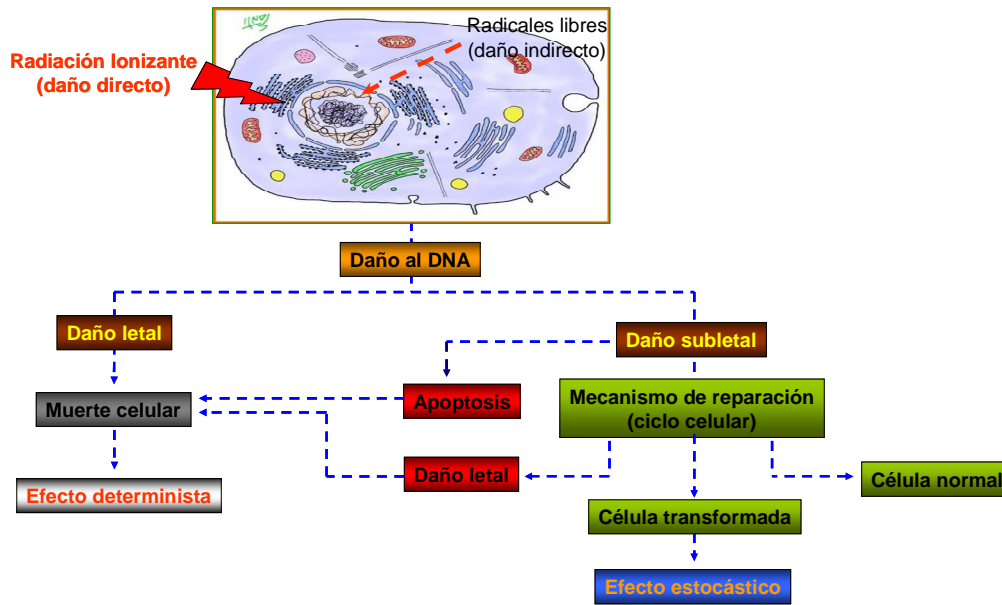


Figura 1.4 Efectos de la Radiación Ionizante a nivel celular

La muy baja probabilidad de aparición de efectos estocásticos y el número limitado de las poblaciones sobre las que realizar estudios sobre los efectos de dosis bajas, determina que no existan datos suficientemente concluyentes acerca de la relación dosis-efecto para bajas dosis. Ya ha sido comentado que la ICRP asume una dependencia lineal sin umbral para tal relación. Es ésta una aproximación conservadora y ciertamente prudente, sobre las que se basa toda la doctrina y las recomendaciones de la ICRP para la protección radiológica de los trabajadores profesionalmente expuestos a radiaciones, del público en general y del medioambiente. No obstante, la relación dosis-efecto lineal sin umbral no es aceptada de modo general y, hay numerosas y cualificadas voces discrepantes, habiéndose generado una cierta controversia en los ambientes científicos relacionados con el tema que al presente permanece activa y aparentemente lejos de cerrarse.

La mayor parte de los datos epidemiológicos han sido obtenidos a dosis altas y, es sumamente difícil obtener información cuantitativamente significativa a dosis más bajas. Esta dificultad viene dada por la ya mencionada baja probabilidad de los efectos a esos niveles de dosis, junto al hecho de que los tumores inducidos por la radiación son, en general, indistinguibles de los que aparecen de forma espontánea o inducidos por otros agentes. Por ello,

determinar un exceso relativamente bajo de tumores requeriría el estudio de poblaciones expuestas muy numerosas, millones de personas según las estimaciones más recientes del riesgo que suponen las dosis bajas. No existen poblaciones de este tamaño expuestas a radiaciones; la mayor población hasta ahora estudiada es la de los supervivientes de Hiroshima y Nagasaki, que incluye a unas 90.000 personas en total [11-12]. Otra fuente de obtención de datos son los trabajadores expuestos, y en este sentido, la Agencia Internacional para la Investigación de Cáncer (IARC) realizó en 2005 un estudio epidemiológico retrospectivo sobre el riesgo de cáncer asociado a dosis bajas de radiación, en una cohorte de más de 400000 trabajadores de la industria nuclear procedentes de 15 países, revelando que el riesgo de cánceres existe, incluso a dosis bajas [13].

A este respecto, buena parte del trabajo que se presenta en esta memoria trata precisamente del desarrollo de nuevos métodos de medida y de preparación radioquímica de muestras de excretas humanas que permitan una mejor y mas precisa cuantificación que la alcanzable con métodos convencionales, de la posible contaminación y su dosimetría en trabajadores que han de desarrollar sus actividades profesionales en presencia de actínidos.

Para evaluar la incorporación de radionucleidos en el organismo se pueden utilizar técnicas de medida directa (*in vivo*) o indirecta (*in vitro*). Los emisores alfa, no pueden cuantificarse por detección directa en el individuo (debido al bajo poder de penetración de las partículas alfa, por lo que el propio organismo actúa como blindaje, impidiendo la cuantificación). Se requiere, por tanto, la determinación indirecta del contenido de radionucleido en excretas (orina y heces) para estimar la dosis incorporada en el organismo.

1.1.5 Aplicaciones de las Radiaciones Ionizantes

Las radiaciones ionizantes, tanto en la industria como en la medicina moderna, llegan a cumplir un papel de suma importancia, aprovechando sus propiedades para realizar trabajos de manera más rápida, eficaz y a un coste menor del que supondría la utilización de otros métodos alternativos. La aplicación de las radiaciones ionizantes se basa en la interacción de la radiación con la materia y su comportamiento en ella. De acuerdo con estas características podríamos clasificar las aplicaciones en tres categorías:

- Aplicaciones basadas en la acción de la materia sobre la radiación. Para este tipo se utilizan generalmente fuentes encapsuladas de pequeña o mediana actividad. Se fundamentan en la diferente absorción o retrodispersión de la radiación por la materia que atraviesa la radiación. Se incluye aplicaciones como la gammagrafía o radiografía industrial, la medida de espesores y de humedad, etc.
- Aplicaciones basadas en la acción de la radiación sobre la materia, debidas a la acción bactericida de la radiación y a su acción ionizante. Para las aplicaciones basadas en la primera característica se utilizan fuentes con elevada actividad y de gran utilidad en la esterilización de todo tipo de productos. Para el segundo caso tipo de aplicaciones se utilizan actividades muy bajas de emisores alfa y beta, como en el caso de los detectores de humo y la producción de materiales luminosos.
- Aplicaciones basadas en el empleo de trazadores. La técnica consiste en incorporar radioisótopos a un material para seguir su curso o comportamiento mediante la detección de la radiación que produce. Estas técnicas se encuentran ampliamente difundidas desde los estudios médicos y bioquímicos hasta en el estudio de transporte de fluidos y la contaminación ambiental.

1.1.6 Organización de la Protección Radiológica

Los avances en el desarrollo de nuevas tecnologías para medir las radiaciones ionizantes se siguen consolidando paulatinamente. Esto es así a pesar de la susceptibilidad que su uso y su mención conlleva entre diferentes colectivos sociales. El hecho es que, la manipulación de las radiaciones ionizantes tiene riesgos y por ello, para su utilización segura es preciso aplicar determinadas salvaguardias, que se establecen en el esquema de Protección Radiológica actualmente vigente. Este esquema ha ido perfeccionándose durante décadas, en las que se han acumulado conocimientos científicos y experiencias prácticas, hasta llegar a su configuración actual. De este modo, surgió por un lado la necesidad de la dosimetría de radiaciones: la necesidad de definir magnitudes y métodos experimentales para la medida de radiación. Por otra parte, establecer criterios para la protección frente a las radiaciones,

que permitieran su empleo seguro en aquellas aplicaciones que pudieran resultar beneficiosas. La definición precisa de conceptos y magnitudes utilizadas para cuantificar la exposición a las radiaciones ionizantes es esencial para evaluar los efectos de dicha exposición. Por esta razón, durante la realización del primer Congreso Internacional de Radiología (Londres 1925) se creó la ahora denominada Comisión Internacional de Mediciones y Unidades de Radiación (*International Commission on Radiation Units and Measurements*, ICRU) cuya función ha sido definir unidades y magnitudes de radiación, las cuales tienen aceptación internacional.

Respecto a la radioprotección, existe otro organismo internacional conocido actualmente como ICRP. La ICRP fue fundada en 1928 por la Sociedad Internacional de Radiología (*International Society of Radiology*, ISR). Inicialmente, se denominó “Comité Internacional de Protección de los rayos X y del Radio”. Fue reestructurada y recibió su nombre actual en 1950, para tener en cuenta los usos de las radiaciones dentro y fuera del área médica. La ICRP es una organización independiente, sin fines de lucro, que trabaja en estrecha relación con el ICRU. Figura registrada en el Reino Unido como organización de beneficencia, y actualmente tiene su pequeña Secretaría Científica en Canadá. Establecida para promover el bien general de la ciencia de la protección radiológica, la ICRP formula recomendaciones y proporciona orientación sobre todos los aspectos de la protección contra las radiaciones ionizantes, al tiempo que deja a los organismos nacionales la responsabilidad de formular las recomendaciones específicas, los códigos de práctica, o reglamentos que mejor se adapten a las necesidades de sus respectivos países. Aunque la ICRP no tiene poder formal para imponer sus propuestas a nadie, de hecho la legislación en la mayoría de países se adhiere estrechamente a sus recomendaciones.

En 1955 fue creado el Comité Científico de Naciones Unidas para el estudio de los Efectos de la Radiación Atómica (*United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation*, UNSCEAR), con la misión de estimar e informar sobre los niveles y efectos de la exposición a las radiaciones ionizantes en población humana y en el medio ambiente. Gobiernos y organizaciones en todo el mundo se apoyan en estas evaluaciones como base científica para establecer criterios y normas de seguridad. Otro organismo

dependiente también de Naciones Unidas es el Organismo Internacional de la Energía Atómica (*International Atomic Energy Agency*, IAEA), cuya función principal es fomentar el uso pacífico de la energía nuclear y la seguridad. En el ámbito de la Unión Europea, en 1957 se estableció la Comunidad Europea de la Energía Atómica (*The European Atomic Energy Community*, EURATOM). Creado en un principio con el fin de coordinar los programas de investigación de los Estados miembros para una utilización pacífica de la energía nuclear, el Tratado EURATOM contribuye en la actualidad a la puesta en común de los conocimientos, las infraestructuras y la financiación de la energía nuclear. Garantiza la seguridad del abastecimiento de energía atómica mediante un control centralizado. EURATOM está dotada de una estructura jurídica específica y dispone de un Programa Marco de Investigación propio que, sin embargo, es gestionado por las instituciones comunitarias. Aunque los Estados miembros conservan la mayoría de las competencias en política energética, sea nuclear o de otras fuentes, el Tratado EURATOM ha alcanzado un importante grado de armonización a nivel europeo. Ofrece un marco jurídico a una serie de tareas específicas de gestión de recursos nucleares y actividades de investigación, cuyas directivas han sido transpuestas a la legislación de los países miembros.

En España se plasma en el Real Decreto 783/2001, de 6 Julio de 2001 [4], y está regulada por el CNS, único organismo competente en materia de seguridad nuclear y protección radiológica en España [14]. En estos documentos se describen los principios generales para la utilización de las radiaciones ionizantes y la aplicación de las normas de seguridad radiológica, que pueden resumirse de la siguiente manera:

- La justificación de una práctica; es decir, que la exposición a la radiación debe aportar un beneficio a los individuos expuestos o a la sociedad suficiente para compensar el perjuicio que ocasiona la radiación.
- Optimización de la radiación; se refiere a la magnitud de las dosis individual, el número de personas expuestas, la probabilidad de incurrir en exposiciones cuando no exista seguridad y la exposición a la radiación debe ser tan reducida como sea razonablemente posible “criterio ALARA” (*As Low As Reasonably Achievable*).

- Límites de dosis y de riesgo individual; en este apartado se hace mención al control del riesgo en el caso de exposiciones potenciales, con el fin de garantizar que nadie se exponga por causa de prácticas que conlleven riesgos radiológicos que se considerarían inaceptables en circunstancias normales. Además especifica la selección y utilización de las fuentes, controlando los límites de dosis.

1.2 PLUTONIO: ANTECEDENTES, QUÍMICA E INFLUENCIA EN LOS PROCEDIMIENTOS DE PURIFICACIÓN PREVIOS AL ANÁLISIS CUANTITATIVO Y TÉCNICAS DE ANÁLISIS

1.2.1 Introducción

La determinación de los radionucleidos de vida larga en muestras medioambientales y de bioensayo es importante para poder garantizar una adecuada protección de las personas y del medio ambiente. La principal fuente de contaminación ambiental procede de las emisiones producidas durante los ensayos con armas nucleares (precipitación o *fallout*). Por otra parte, el aumento de la producción mundial de energía eléctrica de origen nuclear, junto con el desarrollo de toda la industria relacionada (minería del U, fábricas de combustible, fábricas de reproceso, etc.) también constituye, aunque en menor medida, una fuente de contaminación radiactiva.

Entre los diferentes actínidos, el Pu es el radionuclido que se ha producido en mayor cantidad que ningún otro elemento transuránico, siendo por ello el más importante desde el punto de vista de la protección radiológica. Además, debido a su elevada radiotoxicidad y larga vida, el isótopo ^{239}Pu es uno de los radionucleidos que más contribuye al riesgo radiológico a largo plazo. Por esta razón, es necesario realizar controles exhaustivos tanto en la población expuesta como en muestras medioambientales para garantizar que se cumplen los estándares de seguridad radiológica legalmente establecidos, circunstancia que exige el desarrollo de métodos precisos, exactos y sensibles para su cuantificación.

A continuación, se hace una breve descripción de los antecedentes y métodos analíticos empleados para la determinación de Pu en muestras de orina humana.

1.2.2 Antecedentes

El Pu es un elemento radiactivo que fue preparado y estudiado por vez primera por el químico estadounidense Glenn T. Seaborg en 1940 en la Universidad de California en Berkeley [15]. El isótopo ^{239}Pu se obtiene bombardeando el isótopo ^{238}U con núcleos de ^2H o con neutrones ($^{238}\text{U} (n, \gamma) ^{239}\text{U} \rightarrow ^{239}\text{Np} \rightarrow ^{239}\text{Pu}$). En la Figura 1.5, se muestran los productos obtenidos de las reacciones nucleares a partir de isótopo ^{235}U irradiado con neutrones.

Al finalizar la Segunda Guerra Mundial comienza un periodo de auge en el ámbito de la energía nuclear. Desde entonces, el Pu se ha producido para utilizarlo en la fabricación de armas nucleares, como combustible en reactores nucleares rápidos, en aeronáutica y en aplicaciones médicas (baterías para marcapasos). La principal fuente de Pu en el medio ambiente la constituyen las emisiones causadas por los ensayos con armas nucleares realizados en la atmósfera (suspendidos en 1980). Otras emisiones están asociadas a los vertidos controlados o accidentales en instalaciones de reproceso del combustible nuclear, centrales nucleares y fábricas de armamento [16-19]. La tecnología espacial también ha contribuido, aunque en menor medida, a la dispersión de este elemento en el medio ambiente (desintegración de satélites durante su reentrada en la atmósfera terrestre, accidentes).

Según los datos publicados por Choppin [20], desde 1945 más de 2×10^{20} Bq de radiactividad han sido liberados a la atmósfera en los ensayos con armas nucleares, mientras que la aportación, controlada o incontrolada, de radiactividad procedente de sistemas relacionados con reactores nucleares (centrales, fábricas de combustible y reproceso) acumulan un total de 5×10^{18} Bq (aproximadamente un 2,5% de lo emitido en las pruebas con armas nucleares). La concentración de Pu en las aguas superficiales oceánicas es del orden de 10^{-5} Bq kg^{-1} , lo que indicaría que la mayor parte de los 16×10^{15} Bq de Pu, que se estima han sido liberados durante las pruebas con armas atómicas, se habrían incorporado ya a los sedimentos marinos profundos [20-22].

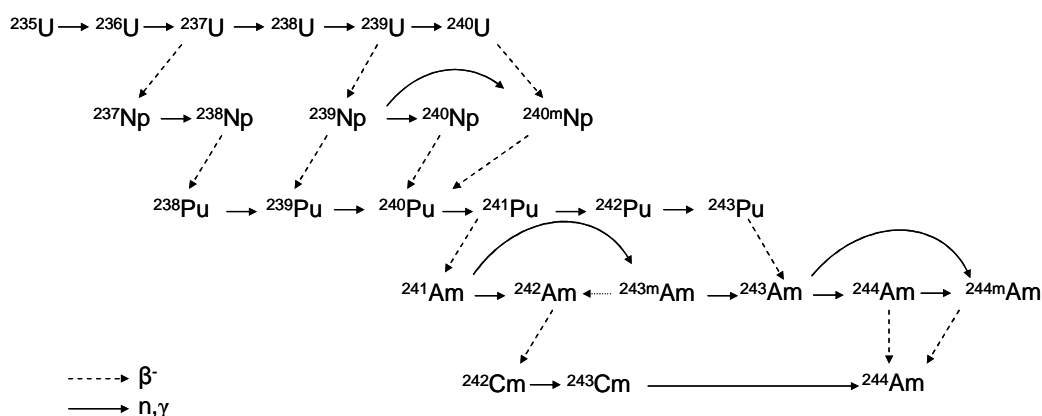


Figura 1.5 Reacciones nucleares por bombardeo de isótopo ^{235}U con neutrones (se indican también las transformaciones por desintegración β^-) [18]. Para mayor claridad, se han omitido del diagrama las desintegraciones alfa y las reacciones de fisión.

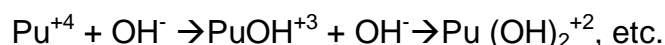
El Pu contiene más 15 isótopos [23], aunque el isótopo de mayor interés en las evaluaciones dosimétricas del personal profesionalmente expuesto es el isótopo ^{239}Pu (periodo de semidesintegración: 24131 años), seguido del isótopo ^{238}Pu (periodo de semidesintegración: 87,7 años) que se utiliza para fabricar baterías nucleares, de aplicación en medicina (marcapasos) y en ingeniería aeroespacial. El Pu emite partículas alfa y radiación gamma. Ya que las partículas alfa son núcleos de helio, de gran poder ionizante, la incorporación de este tipo de emisores en el organismo representa un elevado riesgo para la salud. En humanos, la incorporación del Pu puede producirse por varias vías: intravenosa, por ingestión e inhalación, por absorción cutánea o a través de heridas [24-27].

1.2.3 Química e influencia en los procedimientos de purificación previos al análisis cuantitativo

El parámetro más importante que controla la química acuosa de Pu es el estado de oxidación. Este elemento presenta cinco estados de oxidación posibles (+3, +4, +5, +6, +7) [15, 28-30], lo que hace que su química en disolución resulte realmente compleja y difícil de caracterizar. Resulta esencial, por tanto, disponer de datos termodinámicos de gran calidad, actualizados y fiables, que permitan deducir los campos de estabilidad de los distintos estados de oxidación del Pu en medio acuoso, así como de las especies que puedan

originarse bajo determinadas condiciones fisicoquímicas: óxidos, hidróxidos, complejos carbonatados, etc. Estos aspectos de la química del Pu son de gran relevancia para el desarrollo de metodologías de purificación en el laboratorio y constituyen, por tanto, el punto más crítico para su análisis cuantitativo.

La disolución de Pu (y de los elementos transuránidos en general) en el agua engloba una serie de reacciones químicas que se verifican en paralelo, tales como reacciones de hidrólisis, complejación, reacciones redox, formación de fases coloidales o, en presencia de fases sólidas, reacciones de sorción. En los sistemas naturales, el Pu se presenta en cuatro estados de oxidación, que incluyen Pu(III), Pu(IV), Pu(V) y Pu(VI) –el Pu(VII), como PuO_4^- , no se considera una especie estable en el medioambiente– que pueden coexistir en la misma solución en cantidades desiguales (Figura 1.6). Una reacción química importante que controla la especiación de Pu es la hidrólisis. Las reacciones de hidrólisis provocan la evolución escalonada de especies disueltas con carga positiva hacia la formación de moléculas hidrolizadas coloidales sin carga, por ejemplo:



Que finalmente originan $\text{Pu}(\text{OH})_4(\text{am})$ cuya pérdida de agua lo transforma en $\text{PuO}_2(\text{c})$ [31]. Sin embargo, la cinética de las reacciones de hidrólisis para generar $\text{PuO}_2(\text{c})$ no es bien conocida aún. Por otra parte, considerando únicamente el potencial redox (es decir, sin tener en cuenta de reacciones de formación de complejos y otras reacciones químicas) resulta ciertamente difícil predecir los estados de oxidación estables de iones de Pu presentes en un tipo de agua determinada y su concentración en la misma. Generalmente, el Pu existe en disolución como especies acuosas PuO_2^+ y PuO_2^{2+} , siendo la especie PuO_2^+ la que predomina en aguas naturales aireadas.

El diagrama de estabilidad (Eh-pH) de la Figura 1.6, muestra la existencia de cuatro puntos triples en los que, en condiciones de equilibrio, pueden coexistir especies de Pu con tres estados de oxidación diferentes: (A) $\text{PuO}_2^{2+}/\text{Pu}^{4+}/\text{Pu}^{3+}$; (B) $\text{PuO}_2^{2+}/\text{PuO}_2^+/\text{Pu}^{3+}$; (C) $\text{PuO}_2^+/\text{Pu}(\text{OH})_4/\text{Pu}^{3+}$; y (D) $\text{PuO}_2(\text{OH})_2/\text{PuO}_2^+/\text{Pu}(\text{OH})_4$. En las cercanías de esos puntos, pueden verificarse reacciones de desproporción o dismutación (desproporción es una reacción química en la que un solo compuesto sirve como oxidante y reductor,

convirtiéndose en una especie más oxidada y otra más reducida), debido a variaciones del Eh, pH o de la concentración de especies disueltas. Por ejemplo, la dismutación de PuO_2^+ , puede originar las especies PuO_2^{2+} y Pu^{4+} [33].

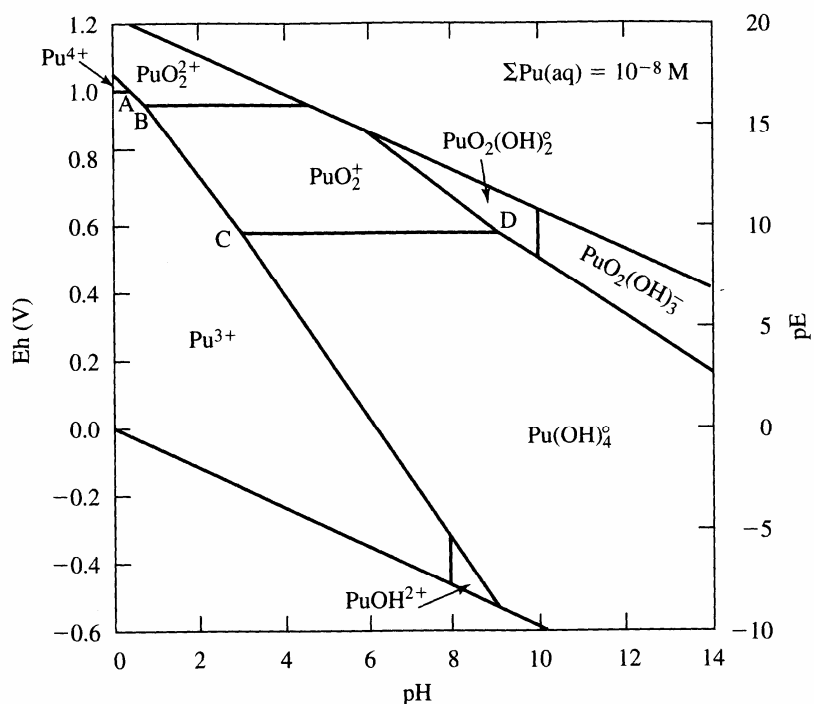


Figura 1.6 Diagrama Eh-pH para el sistema Pu-O₂-H₂O a 25°C y 1 bar de presión total para $\Sigma\text{Pu(aq)} = 10^{-8} \text{ M}$, mostrando los campos de estabilidad de las especies acuáticas predominantes. Las letras A, B, C y D identifican los puntos triples en los que, en condiciones de equilibrio, existen especies con tres diferentes estados de oxidación. La dismutación de especies puede ocurrir en las cercanías de esos puntos (Reproducido de Langmuir [32])

Otro ejemplo es la dismutación de Pu^{4+} , que puede ocurrir mediante la reacción:



Nitsche et al., en 1987 [34]. También se ha demostrado que los ácidos húmicos pueden facilitar la dismutación de especies de Pu [35].

Durante el proceso de desintegración radiactiva, el isótopo ^{239}Pu emite partículas alfa que pueden provocar radiólisis. Las partículas alfa reaccionan con las moléculas de H_2O para originar H_2O_2 y radicales libres, altamente reactivos (por ejemplo $\text{H}\bullet$ y $\text{HO}_2\bullet$) que, a su vez, pueden causar la reducción del Pu(VI) acuoso [31]. Pero además, el Pu forma complejos con la mayoría de los iones habitualmente presentes en las aguas naturales. Estos aniones incluyen al $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$, Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , y F^- . En general, la complejación de aniones con Pu (IV) y Pu (VI) es mayor que con Pu (III) y Pu (V). Asimismo, la tendencia general, en todos los estados de oxidación, para formar complejos con estos aniones puede resumirse de mayor a menor de la siguiente manera:



Así, en los estados de oxidación +3, +5 y +6, el Pu forma complejos carbonatados fuertes para valores de los pH superiores a 5 (Figura 1.7). Sin embargo, los campos de estabilidad del $\text{Pu(OH)}_4(\text{am})$ (no mostrado en la figura) y del $\text{PuO}_2(\text{c})$ se superponen a buena parte de los campos correspondientes a las especies acuosas de Pu(III), Pu(V) y Pu(VI). La deshidratación de la fase de $\text{Pu(OH)}_4(\text{am})$ origina $\text{PuO}_2(\text{c})$, cuyo campo de estabilidad cubre la mayor parte del diagrama Eh-pH (línea discontinua en la Figura 1.7) para concentraciones totales de carbonato (C_T) de 10^{-2} M. La baja solubilidad del $\text{PuO}_2(\text{c})$ condiciona que las concentraciones de Pu disuelto sean inferiores a 10^{-8} M.

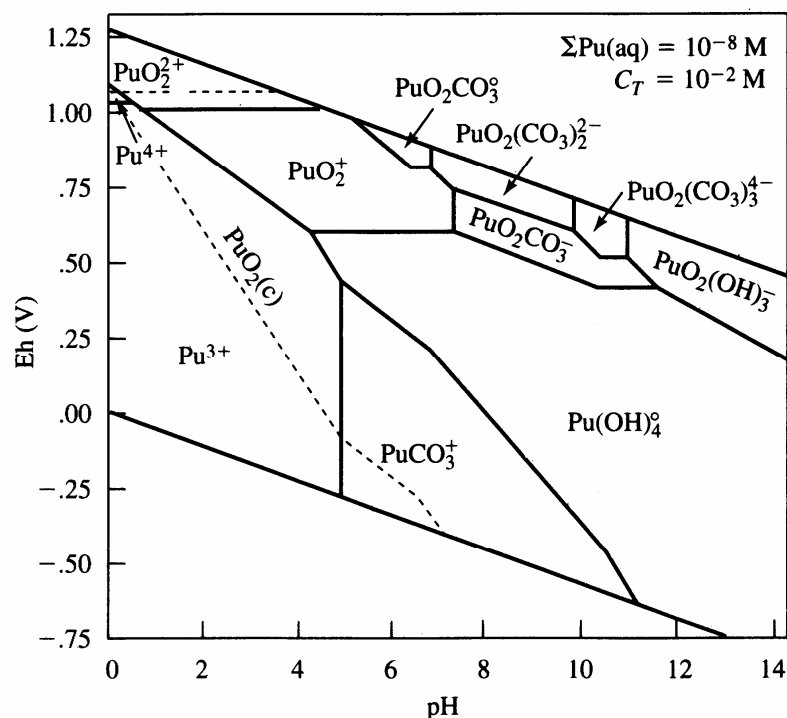


Figura 1.7 Diagrama Eh-pH para el sistema Pu-O₂-CO₂-H₂O a 25°C y 1 bar de presión total para $\Sigma\text{Pu(aq)} = 10^{-8} \text{ M}$, y $C_T = 10^{-2} \text{ M}$, mostrando los campos de estabilidad de las especies acuosas predominantes. La línea de puntos delimita el campo de estabilidad de PuO₂(c) para $\Sigma\text{Pu(aq)} = 10^{-8} \text{ M}$ (Reproducido de Langmuir [32]).

En resumen, la combinación de reacciones posibles (dismutación, complejación, hidrólisis) confieren a la química del plutonio un carácter excepcionalmente complejo. Considerando el proceso de purificación/preconcentración de Pu para su análisis en muestras de orina, el comportamiento y la distribución redox serán las variables principales que determinarán la calidad y el rendimiento de la purificación durante la fase de preparación de la muestra. Para estabilizar el estado de oxidación del Pu(III), se puede añadir FeSO₄ o NH₂OH.HCl [36-37], el cual puede ser oxidado con NaNO₃ o NaHCO₃ a Pu(IV) [37-38]. Esta disolución puede hidrolizar fácilmente, formando la especie Pu(OH)⁺³ como primer producto y finalmente Pu(OH)₄, insoluble [29]. La oxidación Pu(IV) a Pu(VI) en una solución acuosa produce la especie PuO₂. Mediante una reducción cuidadosa podemos obtener Pu(V) (PuO⁺²). En cuanto al Pu(VII), únicamente es estable en condiciones extremas, que habitualmente no se encuentran en el medio ambiente, pudiéndose obtener por oxidación anódica en solución alcalina [28].

Cuando se trata de matrices muy complejas, como es el caso de la orina humana, es necesario realizar un tratamiento previo de la muestra antes de realizar la purificación. Así, la muestra debe ser digerida en medio ácido y oxidante para eliminar cualquier rastro de materia orgánica. Seguidamente, el Pu debe ser estabilizado en un determinado estado de oxidación para favorecer su retención en la fase fija y posterior elución durante la separación radioquímica.

En general, la purificación del Pu se logra mediante extracción cromatográfica bajo condiciones fisicoquímicas bien controladas, usando resinas de intercambio iónico o resinas de extracción en fase sólida. La Tabla 1.1, incluye las resinas más utilizadas para la purificación de Pu en muestras de orina humana.^b En la Tabla 1.2 se resumen los procesos empleados habitualmente en la preparación de muestras de orina para el análisis de Pu.

Tabla 1.1 Resinas para la purificación de Pu, extractante activo y aplicaciones.

Resina	Extractante activo	Aplicación
TEVA	Aliquat (tri-n-octylmethlammonium chloride)	Pu, Th, Np, Tc, Am
TRU	CMPO (octylphenyl-n, n-dis-isobutyl)	Pu, Th, U, Am
UTEVA	DAAP (diamyl amyolphosphate)	Pu, Th, Np, U
AG 1X2, AG1X8	Quaternary ammonium	Pu, Th, Sr, Am
Dowex	Trimethylbenzylammonium	Pu, Th, U, Am
Actinide	P-P-di(2-ethylhexyl)-methaenediphosphonic acid)	Pu, Th, U, Am

^b Previamente al análisis de radionucleidos de vida larga en una muestra de orina humana de 24 h es necesario determinar el nivel de creatinina en la muestra.

Tabla 1.2 Procesos que se emplean en la preparación de las muestras orina humana para el análisis de Pu por AS y MS.

Pasos	Procesos	Reactivos usado en proceso	Tiempo (h)	Ref
Coprecipitación	Homogenización de la orina	HCl o HNO ₃		36-38
	Adición del trazador	²³⁶ Pu, ²⁴⁴ Pu ²⁴² Pu	24-48	39-45
	Adición de sales	Ca ₃ (PO ₄) ₂ , Ca ₃ (NO ₃) ₂ , (HN ₄) ₂ HPO ₄ , MnO ₂ , HN ₃ OH, Fe(OH ₃)		46-50
Destrucción de materia orgánica	Vía húmeda o mufla	HNO ₃	24	36
	Horno de microondas Resina Bio-rad	H ₂ O ₂ with HNO ₃	1-2	38-39, 51
Separación radioquímica Pu ⁺⁶ → Pu ⁺³ → Pu ⁺⁴	Resina Eichrom	HONH ₃ Cl, FeSO ₄ , NaNO ₃ , Al(NO ₃) ₃ .9H ₂ O	3-8	36-38
	Dow Chemical Co			

1.2.4 Técnicas de análisis

Para determinar el Pu excretado en muestras de orina humana, en los laboratorios de bioeliminación se utilizan habitualmente procesos de separación radioquímica, electrodeposición y análisis mediante AS. La AMD que puede alcanzarse por esta técnica radiométrica para el radionucleido de ²³⁹Pu es de 0.2 – 0.4 mBq/muestra (~ 90 – 200 fg/muestra) [28]. En los análisis rutinarios del profesionalmente expuesto en muestras de orina humana de 24 h, la actividad del ²³⁹Pu encontrada raramente excede de 1 mBq (~ 500 fg/muestra) [52].

En la actualidad, las técnicas de MS han supuesto un gran avance en la determinación de Pu y otros actínidos, demostrando ser las mejores técnicas analíticas en situaciones de emergencia, por ejemplo en un escenario de accidente nuclear [53-54], así como en otras áreas, tales como el estudio de contaminación de ecosistemas [55-58], control de alimentos, etc. Su éxito radica en la elevadísima sensibilidad (detección de analitos a nivel de concentración sub-fg/muestra), en su amplio rango dinámico y en la drástica

reducción del tiempo de análisis. Las técnicas de MS más utilizadas en la determinación de Pu en muestras de orina humana son las siguientes: ICP-MS [59-63], TIMS [64-66] y AMS [67-69].

Por tanto, el desarrollo de nuevos métodos analíticos para determinar Pu en muestras de orina humana va encaminado en dos direcciones: mejorar sensiblemente los valores de AMD que actualmente se obtienen utilizando técnicas radiométricas (AS), y disminuir el tiempo de análisis. En este sentido, el uso de la cromatografía de extracción en fase sólida o de la Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) acoplada a ICP-SFMS o Espectrometría de Masas de Alta-Resolución con Fuente de Plasma Acoplado Inductivamente (*High-Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric*, HR-ICP-MS) -los dos términos son sinónimos en este contexto- están adquiriendo gran auge en protocolos de análisis en situaciones de emergencia [53,61].

Finalmente, mencionar la técnica de análisis de trazas de fisión (*Fission Track Analysis*, FTA), que se está desarrollando para dosimetría de personal profesionalmente expuesto. Su aplicación es muy prometedora, ya que su AMD se encuentra en niveles de concentración del orden de $\mu\text{Bq/muestra}$ (sub-fg/muestra) [70-71], por lo que FTA se considera como una técnica muy competitiva, al igual que las técnicas de MS [72-75].

Otras técnicas de MS que se aplican para la determinación de Pu en estudios ambientales son: Espectrometría de Masas de Ionización Multifotónica Resonante (*Resonance Ionization Mass Spectrometry*, RIMS), Espectrometría de Masas por Descarga Luminiscente (*Glow-Discharge Mass Spectrometry*, GDMS), Espectrometría de Masas originada por Chispa (*Spark Source Mass Spectrometry*, SSMS) y Espectrometría de Masas de Iones Secundarios (*Secondary Ion Mass Spectrometry*, SIMS). Hasta el momento, no hay alguna aplicación de estas técnicas en el campo de dosimetría interna.

CAPÍTULO 2. CUANTIFICACIÓN DE Pu EN ORINA HUMANA: MÉTODOS ANALÍTICOS

2.1 Espectrometría Alfa (AS)

La determinación y cuantificación de emisores alfa en muestras biológicas es esencial para establecer las dosis internas recibidas por los trabajadores profesionalmente expuestos a las radiaciones ionizantes. Durante décadas, la AS ha sido un método extremadamente útil y sensible para la detección de emisores en muestras biológicas y medioambientales [45], debido a excelente resolución en energías y gran sensibilidad. Las principales ventajas que ofrece AS son:

- Evalúa otras técnicas alternativas en la determinación de Pu [76-77].
- Permite determinar el rendimiento radioquímico de los métodos empleados en la purificación del Pu [78-79].
- Se utiliza ampliamente para calibración de patrones de referencia [80-81].
- La AMD de ^{239}Pu por AS está en el rango de 0,2 a 0,4 mBq [36].

La detección de los emisores por este método se basa en la interacción de las partículas alfa con un sólido semiconductor (detector), lo que origina un impulso electrónico de amplitud proporcional a la energía de la partícula. Estos impulsos son amplificados y digitalizados, a su vez transferidos a un analizador multicanal, que los clasifica en función de su energía, obteniéndose el correspondiente espectro.

Los emisores alfa producen espontáneamente partículas alfa (núcleos de ^4He) con energía que les son características, generalmente comprendidas entre 4 y 6 Mev. Cuando un núcleo emite una partícula alfa tiene lugar la liberación de una cantidad discreta de energía, característica de la transformación nuclear producida. A esto responde el hecho de que las partículas alfa emitidas por cada radionucleidos son en energías discretas y bien definidas, que corresponden a los radionucleidos en cuestión, siendo éste el fundamento de su medición en detectores semiconductores. Los detectores usados para determinar emisores alfa son de Si o Ge en forma de cristales puros, donde la partícula, al penetrar en el sólido, rompe numerosos enlaces covalentes que forman el retículo cristalino dejando libre pares electrón-hueco.

Si se aplica campo eléctrico, la recogida de estos portadores de carga detecta el paso de estas proporcionando un impulso proporcional a la energía de las mismas. En la Figura 2.1(a) corresponde a una línea monoenergética dónde se encuentra la acumulación total de los impulsos detectados en un intervalo de tiempo (denominado cuentas). Sin embargo, en un espectro real la línea alfa se ensancha asimétricamente, formando una Gaussiana, ver Figura 2.1(b), como consecuencia de distintos factores, unos debidos a la interacción de las partículas alfa con la materia y otros, como el espesor de la fuente y el ruido electrónico, sobre los que se puede actuar para optimizar la resolución de los picos.

Una forma de definir la resolución de un detector es a través del Ancho del Pico a la Mitad de la Altura (*Full Width at Half Maximum*, FWHM) y es la suma de varios efectos que se superponen cuadráticamente y que son siguientes:

$$\Delta^2 = (\Delta v)^2 + (\Delta n)^2 + (\Delta g)^2 + (\Delta s)^2 + (\Delta a)^2 \quad (\text{ecuación 2.1})$$

Donde:

Δ = anchura del pico a la mitad de su altura

Δv = anchura debida a la dispersión del número de colisiones nucleares

Δn = anchura debida a las fluctuaciones del número de electrones-huecos formados

Δg = anchura debida al ruido electrónico

Δs = anchura debida al espesor de la fuente

Δa = anchura debida a la zona muerta del detector

Los parámetros Δv , Δn y Δg son los únicos sobre los que se puede actuar, buscando una optimización de la resolución, ya que Δv y Δn , son dispersiones inherentes al fenómeno de interacción de las partículas con la materia. Δv , es debido a la dispersión en el número de colisiones nucleares, y varía con la energía de las partículas, el número y la masa atómica de éstas, así como con la naturaleza del medio en que inciden. Δn , la anchura es debida

a las fluctuaciones en el número de electrón-hueco, que depende de la energía de la partícula y de la energía necesaria para la creación de un par electrón-hueco. Δg , la dispersión debida al ruido electrónico varía con cada detector y con el equipo electrónico utilizado.

Este ruido puede ser considerado como un transistor de efecto de campo (*Field-Effect Transistor*, FET) de entrada al detector y depende del amplificador, definido por el circuito diferenciador y el circuito integrador, del circuito de entrada y de los parámetros electrónicos del detector. Por ultimo, la calidad de las fuentes influye de manera importante en la resolución de los espectros, pero igualmente puede mejorarse esta resolución.

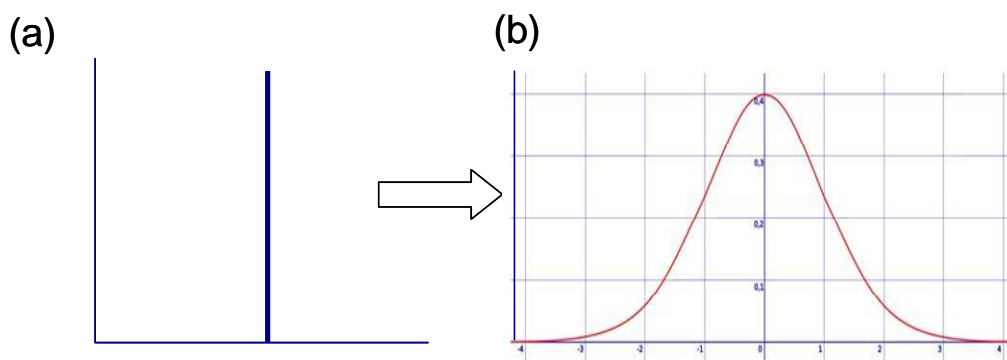


Figura 2.1 (a) línea monoenergética (acumulación total de los impulsos detectados en un intervalo de tiempo, denominado cuentas) y (b) espectro real de un la línea alfa se ensancha asimétricamente (pico de forma Gaussiana)

No obstante, con la aparición de las técnicas de espectrometría de masas, la AS está perdiendo terreno paulatinamente, particularmente en el campo de la dosimetría personal y, especialmente, en situaciones de emergencia radiológica. La explicación de este hecho se debe a varios factores como, por ejemplo, su sensibilidad que ha sido mejorada ampliamente por las técnicas de MS. Por otra parte, existe una gran incertidumbre asociada a la medida cuando la concentración de analito en la muestra es muy baja.

La existencia de interferencias espectrales con los picos de isótopos ^{241}Am y ^{228}Th es otro inconveniente, que obliga a realizar laboriosas preparaciones de la muestra antes de su análisis, o la imposibilidad de discernir

entre los picos de los isótopos ^{240}Pu y ^{239}Pu , debido a que sus energías de emisión son muy similares (5,25 MeV y 5,24 MeV respectivamente) [37]. Finalmente, se trata de una técnica que requiere mucho tiempo para el recuento de la actividad de las muestras.

2.2 Análisis de Trazas de Fisión (FTA)

TFA es un método de datación radiogénica ampliamente usado para datar una variedad de minerales, rocas ígneas, metamórficas, sedimentarias clásticas como también vidrio natural y sintético. El método tiene como principio físico la desintegración radiactiva de un isótopo. El último proceso llamado fisión espontánea (isótopo padre \rightarrow isótopo hijo),^e es el utilizado para la datación por TFA.

Los bajos niveles de AMD alcanzables con FTA para Pu, del orden de $\mu\text{Bq/muestra}$, permiten su uso para la determinación de ^{239}Pu en bioensayo [53-58]. El fundamento de la técnica se basa en la activación neutrónica del Pu depositado en una plancheta. La detección del Pu se realiza mediante un detector de tipo sólido nuclear cubierto con policarbonato, el cual es bombardeado con neutrones en un reactor nuclear [82]. En el proceso de fisión del Pu se obtienen dos fragmentos, uno incide en el detector y dejando una traza muy localizada que se puede contar con la ayuda de un microscopio óptico. Sin embargo, el coste para realizar el análisis de Pu es muy elevado, debido a que las instalaciones se encuentran dentro de un reactor nuclear. Además, el análisis de trazas de Pu en muestras biológicas puede ser difícil en presencia de ^{235}U [74].

2.3 Espectrometría de Masas con Ionización Térmica (TIMS)

La espectrometría de masas de ionización Térmica (o superficie -los dos términos son sinónimos en este contexto) tiene una larga historia en la medida de relaciones isotópicas. El primero en aplicarla fue A.J. Dempster,

^e Así como para cualquier método isotópico de datación de rocas o de minerales, la determinación de la edad trazas de fisión (*Fission Track*, TF) requiere la medición de la cantidad de los elementos padre e hijo. La determinación consiste en la medida de la densidad de las trazas debidas a la fisión natural y de la densidad, tanto del padre y del hijo.

en 1918 [83]. La fuente de ionización térmica se basa en el principio de termoionización, según el cual cuando un átomo o molécula de un elemento con un potencial de ionización PI (eV) se calienta sobre la superficie de un metal o choca contra esta superficie existe una cierta probabilidad de que se produzca la ionización de la especie. En líneas generales puede afirmarse que para compuestos con el primer potencial de ionización bajo cabe esperar elevadas la formación de sus iones positivos, mientras que para sustancias con elevada afinidad electrónica se producirán corrientes de iones negativos. En ambos casos los iones formados suelen tener una sola carga.

En término generales, los elementos cuyo primer potencial de ionización es menor de 7,5 eV se analizan preferentemente mediante la formación de iones positivos (*positive thermal ionization mass spectrometry*, PTIMS) dando lugar a la formación de iones con una sola carga M^+ ; por otro lado los elementos con una afinidad electrónica de al menos 2 eV se analizan formando sus iones negativos (*negative thermal ionization mass spectrometry*, NTIMS) y suelen formar iones con una carga M^- o iones de sus óxidos MO_x^- ($x = 1 - 4$) si la especie depositada contiene átomos de oxígeno. La ionización de ciertos elementos con elevados potenciales de ionización (PTIMS) como el Zn ($PI = 9,4$ eV) o bajas afinidades electrónicas (NTIMS) puede mejorarse utilizando unas sustancias denominadas activadores de ionización, como gel de sílice para PTIMS o compuestos de bario o lantano se utiliza para incrementar el grado de ionización en NTIMS en aquellos elementos cuya afinidad electrónica es < 2 eV.

Por otra parte, es obvio que los elementos cuyo estado natural es un gas, no pueden llevar a cabo su detección por esta técnica. En la Figura 2.2 se identifica el modo de ionización, positiva o negativa, para la mayoría de elementos, así como aquellos elementos que son susceptibles de análisis con isótopos de disolución.

H																			He
Li	Be											B	C	N	O	F		Ne	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar		
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr		
Pb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe		
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn		
Fr	Ra	Ac																	

Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Td	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr

Isotope ratio only determinable by the use of at least one radioactive isotope

Positive thermal ions preferably used

Negative thermal ions preferably used

Negative/ Positive thermal ions preferably used

Can not be determined by TIMS

Figura 2.2 Elementos susceptibles para la Ionización Térmica (*Thermal Ionization*, TI), positivo o negativo (Reproducido de Heumann [84]).

El fundamento de la técnica se basa en hacer circular una corriente eléctrica a través de filamento de metal (por ejemplo, Re de alta pureza) ubicado en el interior de una cámara en condiciones de alto vacío (Figura 2.3). A la temperatura alcanzada, entre 1000-2500 K, se produce la evaporación del analito y, al mismo tiempo, debido al fenómeno de termoinización se liberan electrones procedentes del filamento de Re [85], estos electrones impactan con los átomos del elemento para formar iones. Los iones formados se extraen y enfocan mediante un sistema de lentes iónicas sometidas a un gradiente de potencial eléctrico de unos 10 kV que sirven a su vez de sistema de aceleración. El haz de iones pasa entonces al sistema analizador del espectrómetro de masas^f, donde los diferentes iones son separados, mediante la acción de un campo magnético, en función de su relación masa/carga. Finalmente se dirigen al colector, donde son cuantificados (Figura 2.4).

^f El sector magnético es el sistema analizador más usado en las determinaciones de relaciones isotópicas en TIMS.

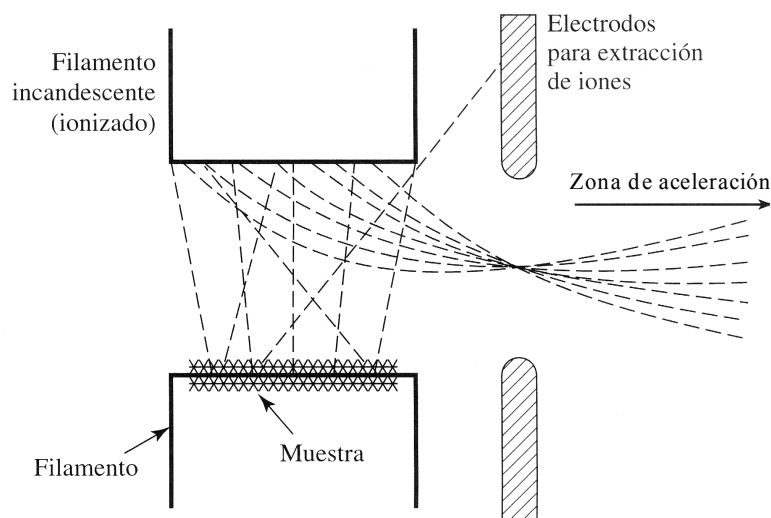


Figura 2.3 Diagrama de una fuente de ionización térmica: La muestra se evapora mediante un filamento caliente y parte del material se ioniza en el filamento incandescente. Los iones de carga sencilla se extraen a la región de aceleración y de allí al analizador de masas (Reproducido de Kenneth [86]).

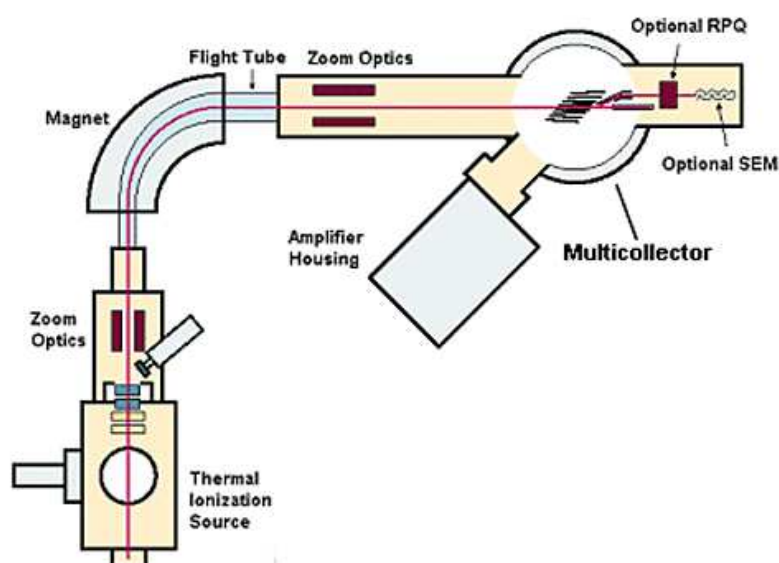


Figura 2.4 TRITON es un multicollector (TIMS) que es fabricado por Thermo Scientific (Reproducido de la referencia 87).

La técnica de TIMS ha adquirido gran relevancia en la medida de relaciones isotópicas debido a la baja incertidumbre de las medidas obtenidas, por lo que es considerada como el método de referencia para la determinación

de la composición isotópica [88]. Por ello dentro de sus aplicaciones está la datación en estudios geológicos [85] y la medida de relaciones isotópicas en química nuclear [89]. Para realizar un análisis con TIMS se requiere un volumen de muestra de 1 a 10 μL , siendo posible determinar concentraciones de μg o ng del U, Pu y Nd con una precisión de 0.1% [90-91]. Por lo expuesto anteriormente la técnica de TIMS resulta adecuada para la determinación de Pu en muestras de orina humana [79], aunque es necesario obtener soluciones puras (mediante procedimientos radioquímicos) para evitar interferencias isobáricas durante la medida [65].

Por otro lado, es importante mencionar que la eficiencia de ionización de la técnica de TIMS es muy baja, solamente el 1% aproximadamente del total de radioisótopos introducidos en la cámara de ionización son ionizados y detectados –en el caso de Pu, dos métodos han sido reportados con una excelente eficiencia de ionización entre 4% y el 9% [89]–, y que la medida de las relaciones isotópicas para un elemento se limita a la existencia de isótopos estables del mismo [92]. Estos inconvenientes se pueden solucionar utilizando materiales de referencia o curvas de calibración interna [93-95].

2.4 Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Acoplada Inductivamente (ICP-MS)

Antecedentes

Desde la introducción del Pu al medioambiente, se ha creado la necesidad constante de mejorar tanto los procesos de preparación de la muestra como los desarrollos instrumentales para conseguir la cuantificación de Pu a niveles ultratrazas. La tecnología de ICP-MS fue introducida en 1980 por Houk [96] y sus colaboradores, mediante el acoplamiento de una fuente de plasma a presión normal con un espectrómetro de masas basado en un cuadrupolo. El primer instrumento introducido en el mercado internacional fue un equipo de ICP-MS de cuadrupolo (PerkinElmer, modelo Elan 250) en 1983. Desde entonces, la instrumentación de ICP-MS ha evolucionado aprovechando los avances tecnológicos que han tenido lugar en campos como la electrónica, la ciencia de materiales, la informática o la tecnología para la generación de alto vacío, dando lugar a desarrollos instrumentales cada vez más sofisticados

y potentes, con una gran diversidad de configuraciones disponibles en el mercado (Figura 2.5 y Figura 2.6).

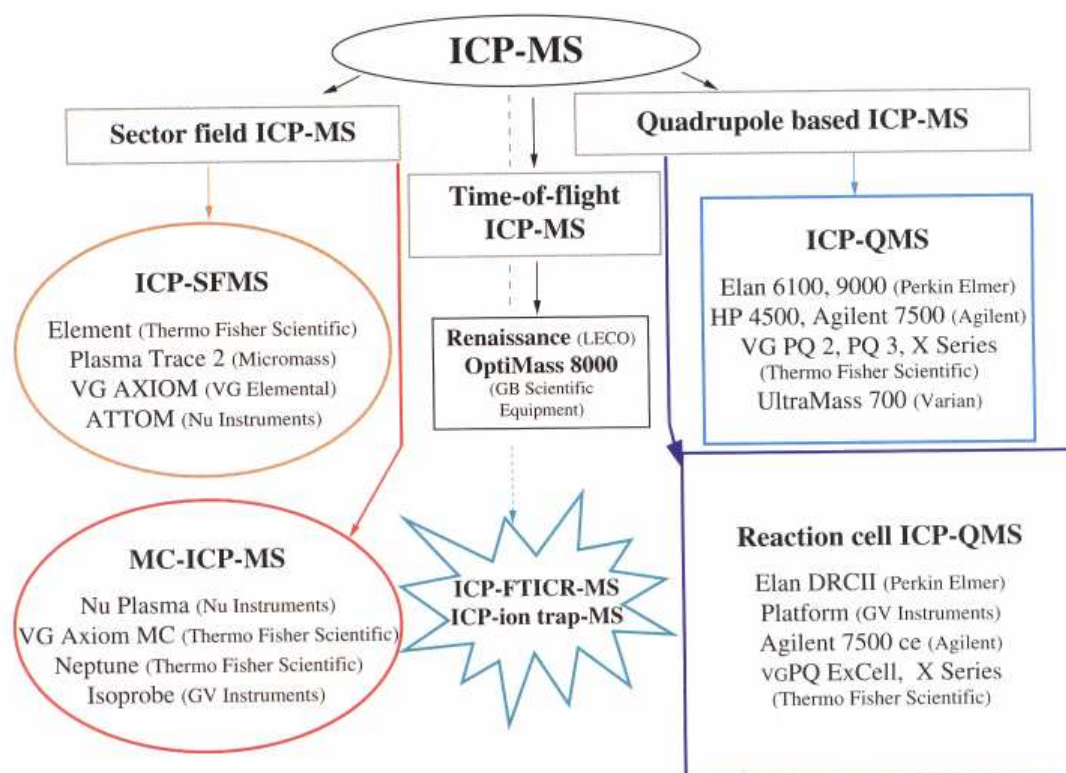


Figura 2.5 Resumen de la instrumentación de ICP-MS de diferentes compañías: ICP-MS basado en cuadrupolo con o sin celda de colisión/reacción, ICP-MS de sector magnético y colector simple (ICP-SFMS) o múltiple (*Multi Collector-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, MC-ICP-MS), e ICP-MS de tiempo de vuelo (Time-of-flight ICP-MS). La Espectrometría de Masas de Resonancia Ciclotrónica por Transformada de Fourier (*Fourier transform ion cyclotron resonance Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, ICP-FTICR-MS) no está disponible comercialmente, pero se incluye en la figura ya que usando trampas de iones y FTICR se pueden resolver interferencias isobáricas que requieren una elevada resolución (por ejemplo $^{58}\text{Fe}^+ / ^{58}\text{Ni}^+$, que requieren $R=30000$), posibilitando el análisis del analito libre de interferencias. (Reproducido de Becker [97]).

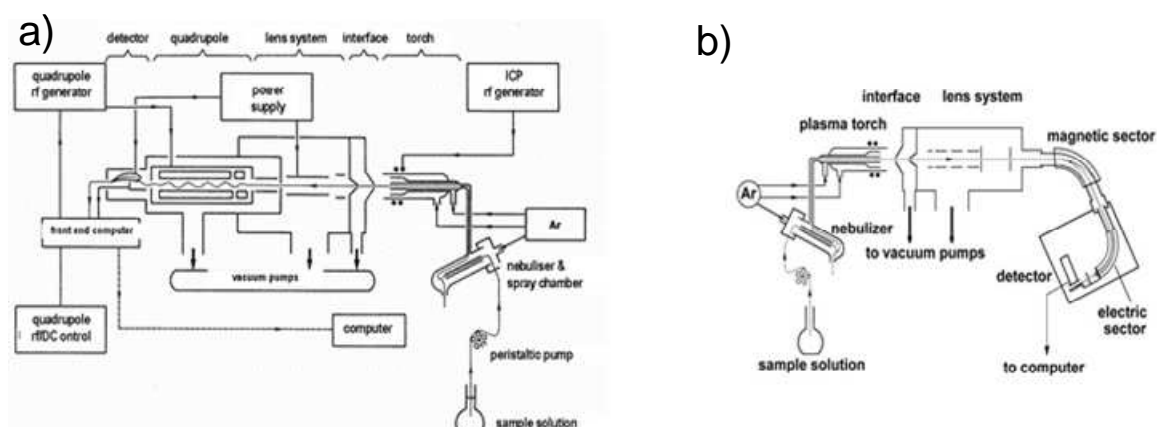


Figura 2.6 a) ICP-MS basado en cuadrupolo vs b) ICP-MS basado en sector magnético (Reproducido de la referencia [98])

Los equipos de ICP-MS (especialmente los sistemas basados en cuadrupolo) presentan muchas ventajas debido a su coste instrumental relativamente bajo, su alta productividad, elevada sensibilidad, precisión y exactitud en los resultados analíticos. Cumplen, por tanto, con los requisitos necesarios para el análisis isotópico y de trazas en tareas de control o de seguimiento que habitualmente se aplican en multitud de campos, tales como medioambiente, industria nuclear, biología, geología, ciencias de los materiales, geoquímica, medicina, etc.

Gracias a sus excelentes LODs y a su capacidad de análisis multielemental, ICP-MS es la técnica de espectrometría de masas más utilizada hoy en día en análisis inorgánico multielemental a concentraciones en el rango de trazas, ultratazas y para análisis isotópico preciso, principalmente en disoluciones acuosas y en muestras sólidas una vez disueltas o directamente, por ejemplo mediante ablación láser, en una amplia variedad de muestras de diferentes tipos. Todo ello queda demostrado por el rápido incremento de instalaciones dotadas de equipos de ICP-MS en todo el mundo, así como de la gran variedad de equipos de ICP-MS basados en cuadrupolo (por ejemplo, Agilent, PerkinElmer, Thermo Fisher Scientific, Varian y otros), sector magnético con doble enfoque y colector simple (Element, Element-2 y Element-XR, de Thermo Fisher Scientific; Nu ATTOM, de Nu Instruments) o múltiple (Neptune, de Thermo Fisher Scientific; Nu Plasma, de Nu Instruments). Así,

unos 25 años después de la introducción de ICP-MS, existen más de 5000 equipos ICP-MS instalados en todo el mundo.

ICP-MS ha demostrado poseer un gran potencial para su aplicación al análisis de actínidos [99-103], y se ha ido consolidando frente a otras técnicas *clásicas* basadas en la detección de la radiación (por ejemplo, la espectrometría alfa). El éxito de ICP-MS se basa en las ventajas anteriormente mencionadas: permite realizar análisis multielemental, posibilidad de análisis por dilución isotópica, bajos límites de detección (rango de 1-100 fg de ^{239}Pu /muestra) [103], rapidez, productividad elevada y automatizada para análisis en rutina, coste razonable. Sin embargo, existen algunos inconvenientes a la hora de determinar radionucleidos de vida larga mediante ICP-MS, como son la existencia de interferencias isobáricas (por ejemplo, $^{241}\text{Am}/^{241}\text{Pu}$; $^{238}\text{U}/^{238}\text{Pu}$; $^{232}\text{Th}/^{232}\text{U}$; $^{236}\text{Np}/^{236}\text{U}$) y poliatómicas ($^{239}\text{Pu}/^{238}\text{U}^1\text{H}$; $^{236}\text{U}^1\text{H}/^{237}\text{Np}$; $^{237}\text{Np}^1\text{H}/^{238}\text{U}$; $^{240}\text{Pu}^1\text{H}/^{241}\text{Am}$; $^{242}\text{Pu}^1\text{H}/^{243}\text{Am}$) [100-102].

Una segunda generación de ICP-MS, desarrollada aproximadamente hace una década, consiste en la unión de un analizador de sector magnético al ICP-MS, más un segundo analizador de sector electrostático (ESA). Esta configuración, denominada geometría inversa de Nier Johnson, permite enfocar tanto el ángulo con el que deflecan los iones como sus energías (doble enfoque).

En las investigaciones realizadas durante la presente Tesis Doctoral se ha utilizado un espectrómetro de masas ELEMENT-XR (Thermo Fisher Scientific) de HR y doble enfoque (Figuras 2.7 y Figura 2.8). Este tipo de ICP-MS ha supuesto un gran avance para el análisis multielemental en general, y para la cuantificación de actínidos en particular. Dentro de sus principales características destacan la elevada resolución, el bajo fondo instrumental y la elevada transmisión iónica, lo que permite alcanzar los límites de detección más bajos por ICP-MS.

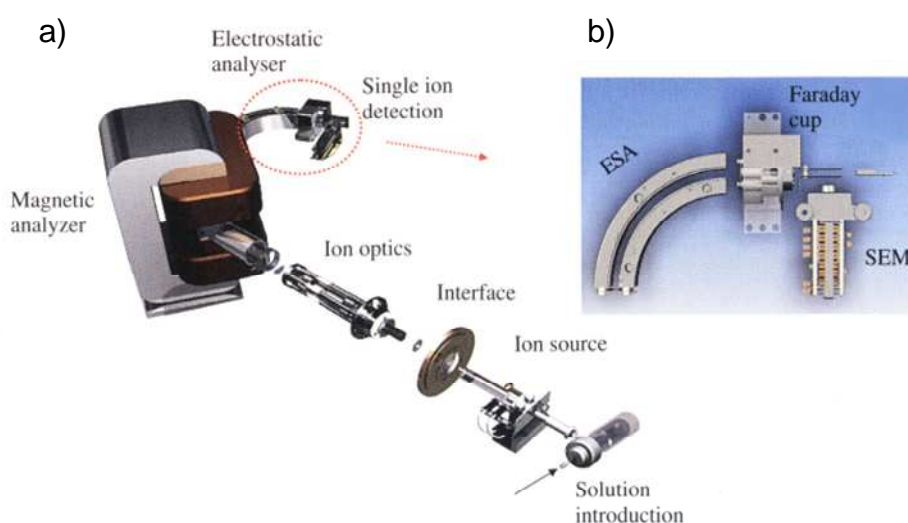


Figura 2.7 a) Configuración experimental del ICP-MS de sector magnético y doble enfoque (ICP-SFMS, Element-XR, Thermo Fisher Scientific, Bremen) con rango dinámico extendido hasta $\sim 10^{12}$. En la figura se muestran el sistema de introducción de la solución, fuente de iones, interfaz, óptica de iones, los analizadores magnético y electrostático combinados en geometría Nier-Johnson inversa y el sistema monocolector de detección; b) detalle de la configuración del sistema para la detección de iones (Reproducida de Finnigan TM ELEMENT XR operating Manual [104]).

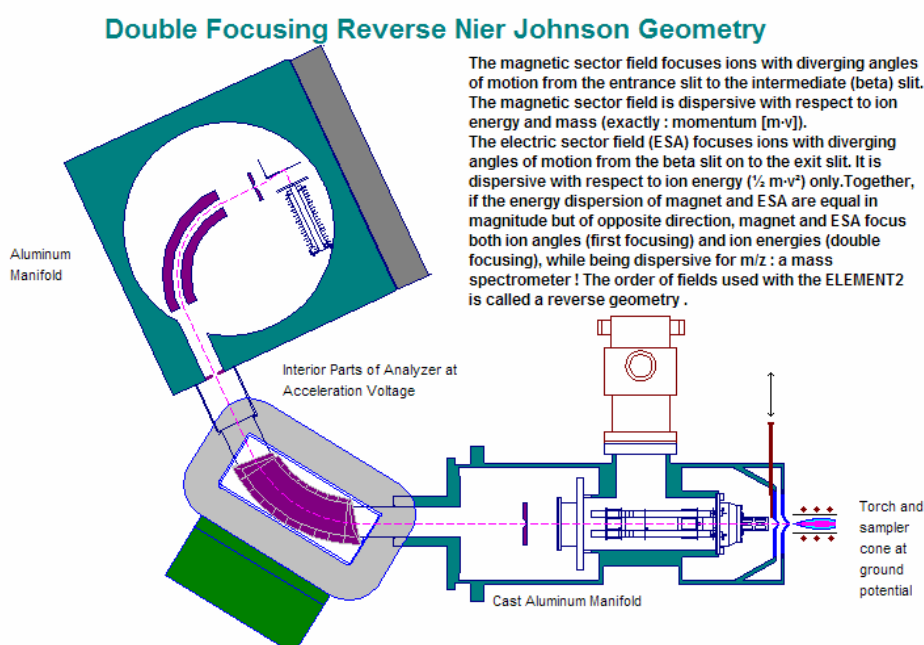


Figura 2.8 Esquema de funcionamiento de las ópticas de iones del ICP-SFMS utilizado en las investigaciones de esta Tesis (Element-XR, Thermo Fisher Scientific), reproducida de Finnigan TM ELEMENT XR operating Manual [104].

Resolución (R)

La capacidad de un espectrómetro de masas para separar los haces de iones con diferentes masas m y $m+\Delta m$ se caracteriza por la resolución de masas o, simplemente, resolución (R) usando la definición siguiente:

$$R = m/\Delta m \quad (\text{ecuación 2.2})$$

O expresado de otro modo, la resolución $R(m/\Delta m)$ es la capacidad de un espectrómetro de masas para distinguir (resolver) las masas de dos picos adyacentes. Esto significa que la cola de un pico de masa m , adyacente al pico del analito de masa $m+\Delta m$, no debe provocar un aumento de la intensidad iónica medida en el rango de masas correspondiente a la detección del analito. Habitualmente se utilizan dos definiciones para la resolución (ver la Figura 2.9) [97]. En la definición del 10% del valle, se consideran dos picos de igual altura en el espectro de masas, con masas respectivas m y $m+\Delta m$. Según esta definición, dos picos se consideran bien separados o resueltos si la altura del punto más bajo del valle entre ambos no excede el 10% de la altura de cada pico. La otra definición, se basa en la estimación de la resolución para un pico de iones de masa m a partir de su anchura (Δm) considerando una fracción determinada de la altura total del pico (generalmente el 5%).

El espectrómetro de masas ELEMENT-XR posee un sistema de rendijas que permite seleccionar, mediante una aplicación informática, la resolución del espectrómetro de masas. El instrumento puede operar en los siguientes modos: baja resolución ($R \sim 300\text{--}400$), media resolución ($R \sim 3000\text{--}4000$) y alta resolución ($R \sim 10000\text{--}12000$). ICP-SFMS permite la determinación rápida de multitud de elementos a concentración ultratraza (hasta sub-fg mL^{-1}) sin necesidad de concentrar el analito. En el modo de baja resolución la precisión en la determinación de ^{239}Pu es del 0,02% y LOD para este radionucleido están en el orden de pg mL^{-1} hasta sub-fg mL^{-1} [102]. En el modo de media resolución la precisión es del 0,2 %, y en el modo de alta resolución la precisión es del 2%. La determinación de Pu en muestras de orina humana por HR-ICP-MS

(ELEMENT XR) puede llegar $1,02 \text{ ag mL}^{-1}$ de ^{239}Pu [101]. Finalmente, cabe mencionar que el mejor ICP-MS para determinar relaciones isotópicas hoy en día es el colector múltiple de iones (Neptune, Thermo Fisher Scientific), que unido al ICP-SFMS (MC-ICP-SFMS), tiene una precisión en el análisis isotópico de $^{240}\text{Pu}/^{239}\text{Pu}$ a concentraciones ultratraza (120 fg de Pu) mejor del 3% [103].

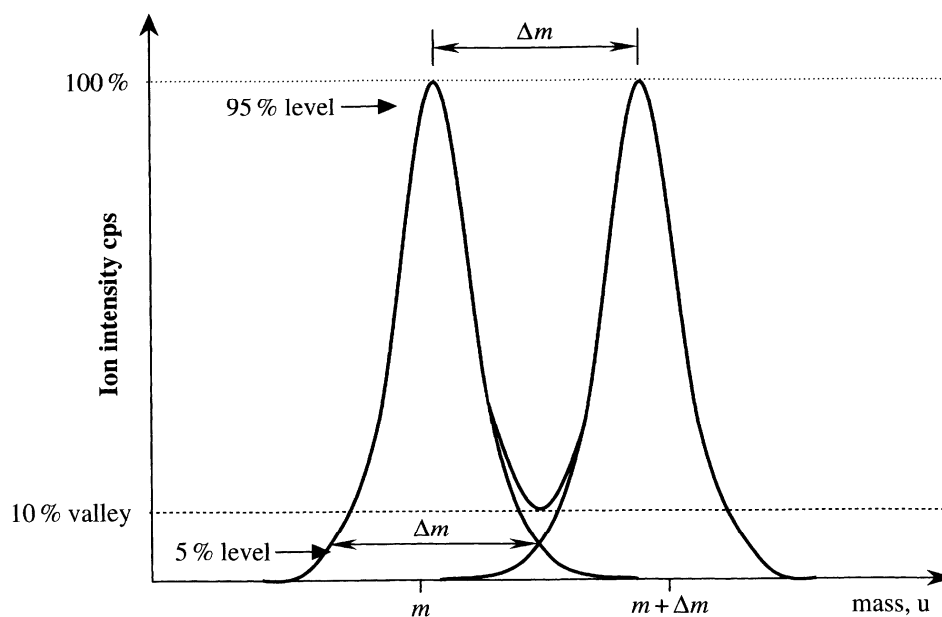


Figura 2.9 Visualización de las dos definiciones de resolución ($R = m/\Delta m$) para ICP-SFMS: definición del 10% valle entre dos picos y definición basada en la anchura del pico al 5% de su anchura. Por ejemplo, un aparato con una resolución de 4000 podrá resolver bien dos picos con valores de m/z de 400,0 y 400,1 (o de 40,00 y 40,01).

Sensibilidad

En ICP-SFMS, la sensibilidad aumenta con el aumento de la masa de los iones analizados. Aunque este incremento resulta menos pronunciado en las regiones de mayor masa atómica (zona de los actínidos), todavía se hace necesario efectuar una corrección de la discriminación de masas (sesgo o *mass bias*) en las medidas de relaciones isotópicas de actínidos. Esta corrección se realiza habitualmente utilizando el factor K [48]: $K = R/r$, donde R es la relación isotópica certificada y r corresponde a la relación isotópica medida por el instrumento. Existen diferentes modelos matemáticos para

realizar la evaluación de K (función lineal, exponencial o polinómica). La más simple y frecuentemente utilizada en ICP-SFMS es la función lineal, que se define como:

$$K_{lin} = 1 + B_{lin} \cdot \Delta m \quad (\text{ecuación 2.3})$$

Donde B_{lin} corresponde a la discriminación de masa por unidad de masa. Sin embargo, la relación entre la sensibilidad instrumental y la masa atómica no es estrictamente lineal, pero las diferencias entre los resultados obtenidos utilizando los diferentes modelos están dentro del rango de incertidumbre de las medidas de las relaciones isotópicas usando ICP-SFMS [105-106].

Taylor *et al.* [107], comparando los factores de sesgo en masas de Pu y U usando MC-ICP-MS, han encontrado que existe una coincidencia en 0,01% u^{-1} para ambos elementos, y concluyen que se puede utilizar un estándar isotópico de U para corregir los datos medidos de relaciones isotópicas de Pu.

El sistema de detección en ICP-SFMS se basa en el conteo de pulsos. Para procesar cada pulso individual, el sistema necesita un pequeño lapso de tiempo durante el cual no se pueden registrar más eventos, es decir, es como si durante ese periodo de tiempo el detector estuviera desactivado o “muerto”. El tiempo muerto del detector se denota habitualmente con el símbolo τ (s). Por consiguiente, estos detectores tienen pérdidas de recuento y el efecto del tiempo muerto aumenta cuando aumenta la tasa de recuento. Generalmente se asume que los sistemas de detección empleados en ICP-SFMS son “no paralizables”, es decir, que su tiempo muerto es fijo y no se extiende debido al impacto de otros iones durante el proceso de un pulso [108]. La tasa de recuento medida para un haz de iones, I (cuentas s^{-1}), se relaciona con la tasa de interacción verdadera, 0I , en un sistema no parализable mediante la relación:

$$I = (1 - I \cdot \tau) \cdot ^0I; \quad ^0I = \frac{I}{(1 - I \cdot \tau)} \quad (\text{ecuación 2.4})$$

El procedimiento habitual para calcular el tiempo muerto de un sistema ICP-SFMS consiste en analizar diferentes concentraciones de un elemento

cuya composición isotópica es conocida (certificada), R , y registrar el cambio en la relación medida, r , en función de la concentración. Un requisito necesario es que, lógicamente, la relación isotópica del patrón certificado no sea igual a 1, ya que en la relación isotópica medida es debido al mayor efecto de τ sobre la intensidad del isótopo más abundante.

Interferencias

En cuanto respecta al tipo de interferencias espectrales que existen en la determinación de actínidos en ICP-SFMS, éstas se pueden clasificar en tres categorías:

- Solapamientos isobáricos
- Iones poliatómicos
- Sensibilidad a la abundancia.

Los solapamientos isobáricos (también denominados interferencias isobáricas) ocurren cuando dos elementos tienen isótopos de igual masa (en general, las dos masas pueden diferir en una pequeña cantidad). En el caso del Pu, las interferencias isobáricas más comunes son: $^{238}\text{U}/^{238}\text{Pu}$ ($\Delta m = 0,001229$) que requiere una resolución mayor que 190000; $^{241}\text{Pu}/^{241}\text{Am}$ ($\Delta m = 0,000022$) y $^{242}\text{Pu}/^{242}\text{Cm}$ ($\Delta m = 0,000092$).

Las interferencias poliatómicas (iones poliatómicos) resultan de una combinación de corta vida de dos o más especies atómicas en el plasma originando los iones poliatómicos. En el plasma existen átomos de Ar, H y O que pueden combinarse unos con otros o con elementos de la matriz, especialmente con los elementos principales que están presentes en los solventes o ácidos usados durante la preparación de la muestra (N, S, Cl). Por tanto, en el plasma pueden formarse un gran número de iones poliatómicos, sobre todo a masas superiores a 82. La formación de estos iones depende de la geometría de extracción, parámetros del plasma y sistema de nebulización utilizado. En el análisis de Pu las interferencias, las más comunes se deben al $^{238}\text{UH}^+/^{239}\text{Pu}$ ($\Delta m = 0,0065$) que requiere una resolución superior a 37000.

Además, existen otras interferencias asociadas con Hg, Pb, Pt, Re, W, etc. [99-103], que se resumen en la Tabla 2.1.

La sensibilidad a la abundancia es una característica muy importante en los espectrómetros de masas. Se define como:

$$\text{Sensibilidad a la abundancia} = \frac{\text{Intensidad del ión a masa } m+1}{\text{Intensidad del ión a masa } m} \quad (\text{ecuación 2.5})$$

Aunque en estos instrumentos existen condiciones de alto vacío, siempre se produce una dispersión de iones en el haz debido al gas residual. También se produce dispersión de partículas por la pared del tubo del analizador, o por repulsión electrostática en el propio haz iónico o por efectos de carga, lo que origina las características “colas” en los picos que aparecen en el espectro de masas. Esta dispersión de la energía de los iones conlleva un deterioro en la sensibilidad a la abundancia de los espectrómetros de masas. Así, cuando la abundancia del isótopo de interés es baja con respecto a otro muy cercano en masa, la cola del pico del isótopo más abundante enmascara el pico del menos abundante, dificultando su análisis.

La sensibilidad a la abundancia se ilustra esquemáticamente en la Figura 2.10 [97]. Los valores de la intensidad iónica (I_B) medidos para el analito B^+ en la masa $m+1$ son demasiado altos debido a la influencia de la cola (β) del pico adyacente más intenso (o más abundante) A^+ en la masa m . Algunos ejemplos de interferencias debidas a la sensibilidad a la abundancia son: $^{236}\text{U}/^{235}\text{U}$, $^{238}\text{U}^+ / ^{238}\text{UH}^+$, $^{239}\text{Pu} / ^{241}\text{Pu}$ [108]. La sensibilidad a la abundancia es mejor en los espectrómetros de masas de sector magnético dotados con sistemas de detección multicolector (y un filtro de energía adicional que suprime los iones dispersados), y puede alcanzar hasta 10^{-9} .

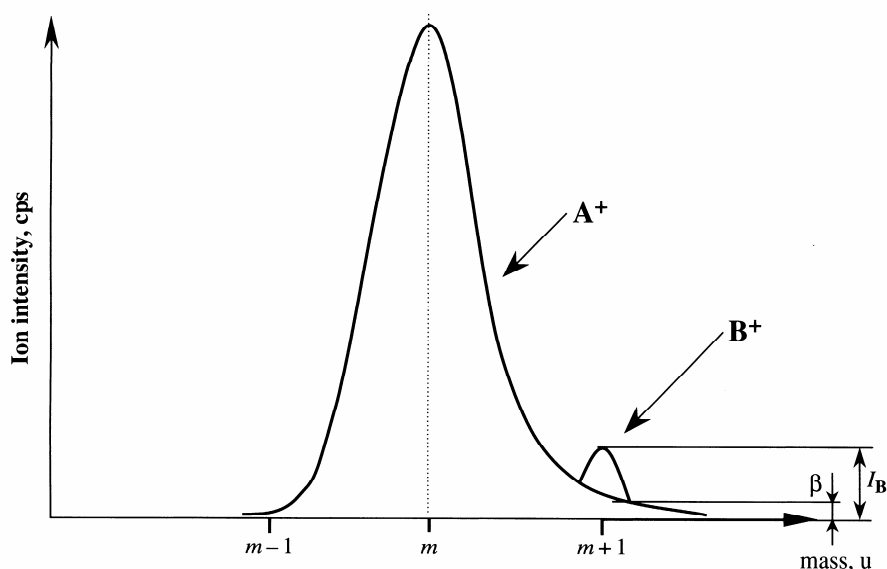


Figura 2.10 Sensibilidad a la abundancia. Influencia de la cola del pico (β) del ión más abundante (A^+) de masa m sobre el pico adyacente (ión B^+) de menor intensidad (I_B) y masa $m+1$

Tabla 2.1 Principales especies poliatómicas que interfieren en el rango de masas de los actínidos [109].

Masa	Especies poliatómicas
233	$^{185}\text{ReO}_3$, $^{193}\text{Ir}^{40}\text{Ar}$, $^{197}\text{Au}^{36}\text{Ar}$, $^{198}\text{Hg}^{35}\text{Cl}$, $^{201}\text{HgO}_2$, $^{200}\text{HgO}_2\text{H}$, $^{203}\text{TlNO}$
234	$^{186}\text{WO}_3$, $^{187}\text{ReO}_3\text{H}$, $^{193}\text{Ir}^{40}\text{ArH}$, $^{194}\text{Pt}^{40}\text{Ar}$, $^{198}\text{Pt}^{36}\text{Ar}$, $^{199}\text{Au}^{37}\text{Cl}$, $^{199}\text{Hg}^{35}\text{Cl}$, $^{202}\text{HgO}_2$, $^{201}\text{HgO}_2\text{H}$, $^{198}\text{Hg}^{36}\text{Ar}$, $^{203}\text{TlNOH}$, $^{204}\text{PbNO}$
235	$^{186}\text{WO}_3\text{H}$, $^{187}\text{ReO}_3$, $^{195}\text{Pt}^{40}\text{Ar}$, $^{194}\text{Pt}^{40}\text{ArH}$, $^{200}\text{Hg}^{35}\text{Cl}$, $^{198}\text{Hg}^{37}\text{Cl}$, $^{202}\text{HgO}_2\text{H}$, $^{199}\text{Hg}^{36}\text{Ar}$, $^{203}\text{TlO}_2$, $^{205}\text{TlNO}$, $^{204}\text{PbNOH}$
236	$^{187}\text{ReO}_3\text{H}$, $^{196}\text{Pt}^{40}\text{Ar}$, $^{195}\text{Pt}^{40}\text{ArH}$, $^{201}\text{Hg}^{35}\text{Cl}$, $^{199}\text{Hg}^{37}\text{Cl}$, $^{204}\text{HgO}_2$, $^{200}\text{Hg}^{36}\text{Ar}$, $^{203}\text{TlO}_2\text{H}$, $^{205}\text{TlNOH}$, $^{206}\text{PbNO}$, $^{204}\text{PbO}_2$
237	$^{176}\text{HfNO}_3$, $^{201}\text{IrNO}_2$, $^{196}\text{Pt}^{40}\text{ArH}$, $^{197}\text{Au}^{40}\text{Ar}$, $^{202}\text{Hg}^{35}\text{Cl}$, $^{200}\text{Hg}^{37}\text{Cl}$, $^{204}\text{HgO}_2\text{H}$, $^{201}\text{Hg}^{36}\text{Ar}$, $^{205}\text{TlO}_2$, $^{207}\text{PbNO}$, $^{206}\text{PbNOH}$, $^{204}\text{PbO}_2\text{H}$
238	$^{198}\text{Pt}^{40}\text{Ar}$, $^{201}\text{Hg}^{37}\text{Cl}$, $^{198}\text{Hg}^{40}\text{Ar}$, $^{202}\text{Hg}^{36}\text{Ar}$, $^{205}\text{TlO}_2\text{H}$, $^{203}\text{Tl}^{35}\text{Cl}$, $^{208}\text{PbNO}$, $^{207}\text{PbNOH}$, $^{206}\text{PbO}_2$
239	$^{177}\text{HfNO}_3$, $^{176}\text{HfNO}_3\text{H}$, $^{191}\text{IrO}_3$, $^{193}\text{IrNO}_2$, $^{198}\text{Pt}^{40}\text{ArH}$, $^{204}\text{Hg}^{35}\text{Cl}$, $^{202}\text{Hg}^{37}\text{Cl}$, $^{199}\text{Hg}^{40}\text{Ar}$, $^{203}\text{Tl}^{36}\text{Ar}$, $^{208}\text{PbNOH}$, $^{207}\text{PbO}_2$, $^{204}\text{Pb}^{35}\text{Cl}$, $^{209}\text{BiNO}$
240	$^{178}\text{HfNO}_3$, $^{177}\text{HfNO}_3\text{H}$, $^{191}\text{IrO}_3\text{H}$, $^{193}\text{IrNO}_2\text{H}$, $^{194}\text{PtNO}_2$, $^{200}\text{Hg}^{40}\text{Ar}$, $^{205}\text{Tl}^{35}\text{Cl}$, $^{203}\text{Tl}^{37}\text{Cl}$, $^{208}\text{PbO}_2$, $^{207}\text{PbO}_2\text{H}$, $^{204}\text{Pb}^{36}\text{Ar}$, $^{209}\text{BiNOH}$
241	$^{179}\text{HfNO}_3$, $^{178}\text{HfNO}_3\text{H}$, $^{193}\text{IrO}_3$, $^{195}\text{PtNO}_2$, $^{194}\text{PtNO}_2\text{H}$, $^{204}\text{Hg}^{37}\text{Cl}$, $^{201}\text{Hg}^{40}\text{Ar}$, $^{205}\text{Tl}^{36}\text{Ar}$, $^{208}\text{PbO}_2\text{H}$, $^{204}\text{Pb}^{37}\text{Cl}$, $^{206}\text{Pb}^{35}\text{Cl}$, $^{209}\text{BiO}_2$
242	$^{180}\text{HfNO}_3$, $^{179}\text{HfNO}_3\text{H}$, $^{193}\text{IrO}_3\text{H}$, $^{196}\text{PtNO}_2$, $^{195}\text{PtNO}_2\text{H}$, $^{194}\text{PtO}_3$, $^{202}\text{Hg}^{40}\text{Ar}$, $^{205}\text{Tl}^{37}\text{Cl}$, $^{207}\text{Pb}^{35}\text{Cl}$, $^{206}\text{Pb}^{36}\text{Ar}$, $^{209}\text{BiO}_2\text{H}$
243	$^{180}\text{HfNO}_3\text{H}$, $^{181}\text{TaNO}_3$, $^{196}\text{PtNO}_2\text{H}$, $^{195}\text{PtO}_3$, $^{194}\text{PtO}_3\text{H}$, $^{197}\text{AuNO}_2$, $^{203}\text{Tl}^{40}\text{Ar}$, $^{208}\text{Pb}^{35}\text{Cl}$, $^{206}\text{Pb}^{37}\text{Cl}$, $^{207}\text{Pb}^{36}\text{Ar}$
244	$^{181}\text{TaNO}_3\text{H}$, $^{182}\text{WNO}_3$, $^{198}\text{PtNO}_2$, $^{196}\text{PtO}_3$, $^{195}\text{PtO}_3\text{H}$, $^{197}\text{AuNO}_2\text{H}$, $^{204}\text{Hg}^{40}\text{Ar}$, $^{198}\text{HgNO}_2$, $^{203}\text{Tl}^{40}\text{ArH}$, $^{207}\text{Pb}^{37}\text{Cl}$, $^{204}\text{Pb}^{40}\text{Ar}$, $^{208}\text{Pb}^{36}\text{Ar}$, $^{209}\text{Bi}^{35}\text{Cl}$
245	$^{183}\text{WNO}_3$, $^{182}\text{WNO}_3\text{H}$, $^{198}\text{PtNO}_2\text{H}$, $^{196}\text{PtO}_3\text{H}$, $^{197}\text{AuO}_3$, $^{199}\text{HgNO}_2$, $^{198}\text{HgNO}_2\text{H}$, $^{205}\text{Tl}^{40}\text{Ar}$, $^{208}\text{Pb}^{37}\text{Cl}$, $^{204}\text{Pb}^{40}\text{ArH}$
246	$^{184}\text{WNO}_3$, $^{183}\text{WNO}_3\text{H}$, $^{198}\text{PtO}_3$, $^{197}\text{AuO}_3\text{H}$, $^{200}\text{HgNO}_2$, $^{199}\text{HgNO}_2\text{H}$, $^{198}\text{HgO}_3$, $^{205}\text{Tl}^{40}\text{ArH}$, $^{206}\text{Pb}^{40}\text{Ar}$, $^{209}\text{Bi}^{37}\text{Cl}$
247	$^{184}\text{WNO}_3\text{H}$, $^{185}\text{ReNO}_3$, $^{198}\text{PtO}_3\text{H}$, $^{201}\text{HgNO}_2$, $^{200}\text{HgNO}_2\text{H}$, $^{199}\text{HgO}_3$, $^{198}\text{HgO}_3\text{H}$, $^{207}\text{Pb}^{40}\text{Ar}$, $^{206}\text{Pb}^{40}\text{ArH}$

La sensibilidad a la abundancia también puede considerarse en el caso de haces de iones que presentan una diferencia de dos unidades de masa. Por ejemplo, la medida de ^{236}U está limitada por la interferencia de la cola del pico del isótopo mayoritario $^{238}\text{U}^+$. En estos casos, la sensibilidad a la abundancia está definida por:

$$\text{Sensibilidad a la abundancia} = \frac{\text{Intensidad del ión a masa } m+2}{\text{Intensidad del ión a masa } m} \quad (\text{ecuación 2.6})$$

En los equipos de espectrometría de masas de sector magnético y doble enfoque dotados con sistemas de detección monocollector, la mejor sensibilidad a la abundancia con una diferencia de masa igual a dos se logra trabajando en el modo de media resolución $m/\Delta m = 4000$ (9×10^{-7}).

Existen, además, otras interferencias que están relacionadas con la eficiencia de ionización en el plasma, efectos de la matriz, eficiencia de la transferencia de la muestra al plasma, estabilidad de la señal, etc. Para minimizar en lo posible dichas interferencias se deben aplicar procedimientos específicos para la preparación de la muestra en condiciones de limpieza extrema (en sala blanca), utilizando reactivos ultrapuros, acoplando al instrumento sistemas de nebulización que aumenten la eficiencia (por ejemplo el desolvatador “Aridus”, que reduce en un orden de magnitud la formación de óxidos) y optimizando los parámetros operativos del instrumento durante la sintonización.

Para determinar isótopo ^{239}Pu en muestras de orina humana por ICP-SFMS, siempre se considera la purificación o preconcentración del Pu de la muestra. Esta purificación tiene varias consecuencias favorables desde el punto de vista analítico: se eliminan sales, materia orgánica y otros elementos que provocan un fuerte efecto matriz (supresión de la señal, inestabilidad durante las medidas, comportamiento no lineal, formación de costras salinas y corrosión en los conos del instrumento; se pre-concentra y separa el analito de otros actínidos que pueden interferir en las medidas, por ejemplo, se evita la formación en el plasma de la interferencia poliatómica $^{238}\text{UH}^+$ [50], que requiere una resolución de masa ($m/\Delta m$) superior a 36000. Existen métodos alternativos para eliminar la interferencia poliatómica del ión $^{238}\text{UH}^+$ (por ejemplo, en muestras con un contenido de $\text{U} \geq 1 \mu\text{g mL}^{-1}$) que consiste en suprimir el uso de H_2O y utilizar en su lugar agua pesada, D_2O , con lo que la interferencia ya no se forma en la masa correspondiente al isótopo ^{239}Pu [110]. Otra opción es acoplar al instrumento un desolvatador Aridus, el cual reduce la interferencia producida por el U [111-112]. Actualmente, se han desarrollado nuevos métodos analíticos más rápidos para determinar radionucleidos de vida larga en muestras de orina humana por HLPC-HR-ICP-MS [97,113-116]. En la Tabla

2.2, se muestra una comparación de los diferentes instrumentos y configuraciones para determinar Pu mediante ICP-MS.

Finalmente, mencionar que existe otro acoplamiento para ICP-MS que está ganando mucho terreno en aplicaciones de todo tipo (geológicas, biomédicas, ciencia de los materiales, aplicaciones forenses, etc.): se trata de la Espectrometría de Masas con Fuente de Plasma Inducido Acoplada a un sistema de Ablación Láser (*Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, LA-ICP-MS), que también se está revelando como una nueva alternativa para la determinación de Pu [50, 102].

Tabla 2.2 LOD de Pu usando como detector ICP-MS

Método	Nebulizador	Isótopos	LOD (pg l ⁻¹)	Ref
ICP-SFMS	Meinhard MicroMist Cetac USN	²³⁹ Pu	0,3 0,3 0,04	118
ICP-SFMS	DIHEN PFA-100	²³⁹ Pu, ²⁴² Pu ²³⁹ Pu, ²⁴² Pu	1,02, 0,9 9,0, 8,0	50
AFIS-ICP-SFMS	PFA	²³⁹ Pu	0,09	53
ETV-ICP-MS	Ultrasonic	²³⁹ Pu	50-100	121
ETV-ICP-MS	Ultrasonic	²⁴² Pu	170	122
FI-ICP-SFMS	MicroMist Aridus Apex	²³⁹ Pu, ²⁴² Pu ²³⁹ Pu, ²⁴² Pu ²³⁹ Pu, ²⁴² Pu	5,2, 5,1 38,4, 34,4 0,8, 1,6	52
HPLC-ICP-SFMS	Cetac USN	²³⁹ Pu	20	120
HR-ICP-MS	Ultrasonic	²³⁹ Pu, ²⁴⁰ Pu ²⁴² Pu	5 1 1	119
ICP-SFMS MC-ICP-MS	PFA-100	²³⁹ Pu	3,3 3,9	117-118
n FI-ICP-SFMS	DS-5	²⁴² Pu	0,3	116
HPLC-ICP-MS	Cross-flow	Pu	150	46
ICP-MS	USN	²³⁹ Pu	130	51

2.5 Espectrometría de Masas con Acelerador de partículas (AMS)

Avances y aplicaciones de AMS en el análisis de radioisótopos de vida larga

AMS es una técnica ultra-sensible para el análisis de isótopos, en el cual se extraen átomos de la muestra y son ionizados, acelerados a alta energía, separados en función de su impulso, carga y energía, y individualmente estos son contados después de ser identificación con un número y masa atómica correcta. La principal diferencia entre AMS y las técnicas convencionales de MS se encuentra en las energías a las que los iones son acelerados. En MS, la energía que se aplica son miles de electrón voltios ($1 \text{ keV} = 1.6 \times 10^{-16} \text{ J}$), mientras que en AMS se usa millones de electrón voltios (MeV) –esto permite que los sistemas de AMS que son utilizados para medir relaciones isotópicas de los elementos de interés a un nivel de 1 hasta 10^{15} (rango dinámico)– es un factor 10^{-5} menor que en la mayoría de los sistemas de MS.

AMS tiene una extremada sensibilidad en la medida de isótopos, ya que puede determinar en 1 mg de muestra hasta 1×10^6 átomos del isótopo de interés dentro de un tiempo de medida de 1 hora. Por ello, la técnica de AMS es reconocida como uno de los avances más significativos en el campo de la investigación en el análisis de isótopos –basada en la tecnología de aceleradores- en el siglo 20 [123].

Desde la década de 1980 su impacto prácticamente en todos los dominios de la ciencia y la tecnología ha sido inconmensurable [124-131]. Los avances obtenidos gracias a la elevada sensibilidad sin precedentes que ofrece AMS en todos los temas relacionados con el estudio del pasado y presente del planeta Tierra (geológico, biológico, etc), han facilitado cambios de los conceptos y modelos imperantes [123].

El primer estudio con AMS fue la detección de isótopo ^3He en la naturaleza usando un ciclotrón de Berkeley de 88 pulgadas [132]. No fue hasta cuatro décadas después, en 1977 cuando Muller et al [133], reportó que los aceleradores modernos podrían acelerar las partículas radiactivas a una energía donde las interferencias de fondo podrían ser separadas usando técnicas de identificación de partículas. Al mismo tiempo demostró su aplicación en la detección de los isótopos ^3He , ^{14}C y varios otros isótopos de

interés científico, incluyendo el isótopo ^{10}Be [134]. Posteriormente, muchos otros radioisótopos se han determinado por AMS, incluyendo los isótopos ^{26}Al , ^{32}Si , ^{36}Cl , ^{39}Ar , ^{41}Ca , ^{59}Ni , ^{81}Kr , ^{236}U , ^{239}Pu , etc. (Figura 2.11).

Los avances de la tecnología moderna en los últimos 30 años han producido cambios e innovaciones en desarrollo de nuevos sistemas de AMS, menos complejos de operar y capaces de trabajar a bajas energías, como es el caso de los sistemas compactos de AMS que pueden operar desde 0,2 hasta 1 MV [135-136].

Los sistemas de AMS han dejado de ser máquinas construidas y aplicadas en los laboratorios de investigación para convertirse en la actualidad en una herramienta más para el análisis rutinario de muestras de todo tipo. En la Tabla 2.3 se detalla la distribución de las instalaciones de AMS en todo el mundo.

Durante la realización de la presente Tesis Doctoral se ha empleado un sistema de AMS compacto de 1 MV instalado en el CNA en Sevilla, España. La descripción y capacidades de este sistema de AMS para determinar radioisótopos de vida larga, se describe en la referencia [137].

Por otra parte, la principal línea de investigación con sistemas compactos AMS hoy en día, es el desarrollo de nuevas metodologías que mejoren la producción de haces de iones negativos, la transmisión global de los iones, la eficiencia y supresión del fondo instrumental debido a los isótopos adyacentes e isóbaros para la adecuada medición de los diferentes radioisótopos de interés.

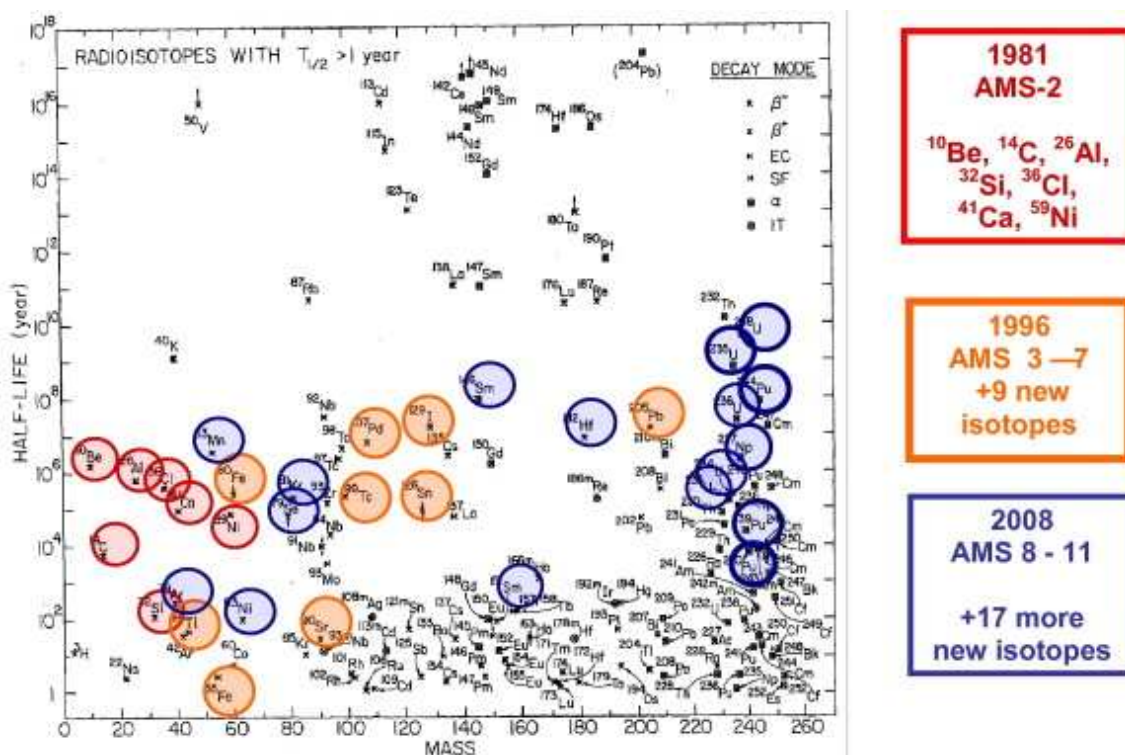


Figura 2.11 Radionucleidos que se han analizado con éxito utilizando AMS en los últimos 30 años [123].

En resumen, la técnica de AMS se ha convertido en una herramienta analítica poderosa y sofisticada para análisis de la composición isotópica de los elementos presentes en una muestra problema. Además, con un amplio rango de aplicaciones [125-131], aspectos generales sobre AMS [130] y sistemas de AMS compactos [136]. Actualmente, existen más de 40 laboratorios que poseen sistemas de AMS personalizados (diseñados con un propósito específico) para su aplicación en diversas áreas, tales como:

- **Astrofísica:** El análisis de los isótopos producidos por rayos cósmicos tales como; ^{10}Be , ^{14}C , ^{26}Al , ^{36}Cl , ^{41}Ca , ^{129}I . Mediante el estudio de estos radionucleidos en diferentes compartimentos naturales, como meteoritos, testigos de hielo o sedimentos, se puede obtener mucha información sobre la actividad solar y, por ende, de la historia de nuestro planeta, por ejemplo glaciaciones, impactos de meteoritos, etc.

- Arqueología: En datación, las medidas de los isótopos ^{14}C y ^{41}Ca por AMS permiten una sensibilidad mayor, utilizando una pequeña cantidad de muestra, y requieren un menor tiempo análisis.
- Física Nuclear: La aplicación de AMS en las medidas de radioisótopos artificiales (producidos en los reactores nucleares), por ejemplo en controles de calidad, permite una elevada sensibilidad en las medidas, análisis rápidos, empleo de pequeñas cantidades de muestra y, por tanto, menor exposición a la radiación del personal profesionalmente expuesto.
- Geología: Las medidas de los isótopos ^{10}Be , ^{14}C , ^{36}Cl , y ^{129}I por AMS son muy útiles como trazadores naturales. Pero es en los estudios de datación geocronológica donde AMS ha sido y es intensivamente utilizado.
- Medio Ambientales: Las medidas de radioisótopos naturales y artificiales (^{10}Be , ^{14}C , ^{36}Cl , ^{41}Ca , ^{63}Ni , ^{129}I , $^{233-238}\text{U}$, $^{238-244}\text{Pu}$, etc.) en muestras naturales permiten resolver problemas ambientales actuales o pasados.
- Biomedicina: La sensibilidad sin precedentes de AMS ha permitido descubrimientos imposibles de realizar con las técnicas convencionales de biomarcadores aplicando radioisótopos. Bio-AMS permite la medida de la respuesta biológica para dosis ultrabajas de diversas toxinas y a las nuevas drogas desarrolladas en medicina terapéutica. Es más, AMS facilita la realización de estudios poblacionales en humanos. En la década pasada, las compañías farmacéuticas incorporaron AMS como la técnica para realizar estudios farmacocinéticos de sus productos, construyendo para ello nuevos laboratorios biomédicos de AMS.

Tabla 2.3 Distribución actual de las instalaciones de AMS según el país y el tamaño del sistema AMS [123].

	SSAMS 0.2 MV	0.5 - 1 MV	3 MV	5 - 6 MV	8 - 14 MV	TOTAL
AUSTRALIA	ANU, Canberra		STAR (2) ANSTO, Sydney	GNS (6), Wellington, NZ	ANTARES (10), ANSTO ANU (14), Canberra	5
CHINA		Peking Univ (0.5), Beijing	CAS, Xian	PKUAMS (6), Beijing	CIAE (13), Beijing	4
EUROPE	Lund, SWEDEN	Seville (1), SPAIN Trondheim (1), NORWAY Poznan (0.5), POLAND Tandy ETH (0.5), SWITZERLAND MICADAS ETH (0.25), SWITZ MICADAS (0.25), HEIDLEBERG	Jena, GERMANY Kiel, GERMANY Gronigen, HOLLAND Florence, ITALY Lecce, ITALY CIRCE, Naples ITALY VERA, AUSTRIA CEA Saclay, FRANCE	CEREGE (5), FRANCE Uppsala (5), SWEDEN Aarhus (6) DENMARK ETH (6), SWITZERLAND Utrecht (6), HOLLAND Erlangen (6), GERMANY	Munich (14), GERMANY Bucharest (8), ROMANIA	23
INDIA			IOP Bhubaneswar		IUAC (15), New Delhi	2
JAPAN & Sth KOREA		KIGAM, TAEJON, Sth KOREA	Nagoya Univ, JAPAN JAERI, JAPAN National Univ, Seoul, SK	NIES (5) Tsukuba, JAPAN MALT (5), Tokyo, JAPAN Tono Geoscience (5), JNC		7
UK	SUERC	Queens Univ (0.5), BELFAST	Oxford	SUERC (5)		4
USA & CANADA		CAIS (0.5), GEORGIA Irvine (0.5), CALIFORNIA NOSAMS (0.5), WHOI	ISOTRACE, Toronto NOSAMS, WHOI NSF, ARIZONA NSF, ARIZONA		CAMS (10), LLNL PRIME (10), Purdue	9
BIO-MED & Commercial	Xceleron, USA GKS, USA GKS, UK Beta, USA	ACCIUM (0.5), Seattle, USA MIT (1), USA CAMS (1), LLNL BIO-MICADAS, Vitales Sci, USA BIO-MICADAS, ETH IAA (0.5), Kanagawa, JAPAN Paleo Labo (0.5), JAPAN	IAA, Kanagawa, JAPAN	CBAMS (5), Xceleron, UK		13
NEW 2008-2010		GNS (0.6) Wellington, NZ ANSTO (1) AUSTRALIA		Cologne (6) GERMANY Dresden (6) GERMANY ANSTO (6) AUSTRALIA		5
TOTAL	7	21	20	16	8	72
		HVE	NEC	Italics = shared / modified accel facility		

Aceleradores para AMS

Los aceleradores de partículas son instrumentos que utilizan campos electromagnéticos para acelerar las partículas cargadas eléctricamente hasta alcanzar velocidades muy altas, pudiendo ser cercanas a la de la luz. El uso de aceleradores de elevada energías ha sido acoplado a una amplia variedad de espectrómetro de masas.

- Acelerador Tandem. Este tipo de acelerador es ampliamente extendido en el área de física nuclear debido a su versatilidad y elevada precisión. El acelerador Tandem con un voltaje en la terminal entre 2 hasta 3 MV son específicamente designados a los sistemas de AMS para en la determinación de radioisótopos de vida larga tales como; ^3H , ^7Be , ^{10}Be , ^{14}C , ^{26}Al , ^{129}I , $^{233-238}\text{U}$, $^{238-244}\text{Pu}$. En el caso de un voltaje en la terminal de 6 a 15 MV son susceptibles a medida ^{36}Cl , ^{41}Ca y ^{59}Ni . Además, los sistemas de AMS compactos son eficaces en el análisis de radioisótopos estables.
- Ciclotrón: Es un acelerador de partículas circular que, mediante la aplicación combinada de un campo eléctrico oscilante y otro

magnético consigue acelerar los iones haciéndolos girar en órbitas de radio y energía crecientes., pero el problema no desaparece. Es ampliamente usado conjuntamente con la técnica de *tomografía de emisión por positrones (PET)* para determinar los isótopos ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O y ^{18}F . Por otra parte, los ciclotrones solo se pueden usar en aplicaciones de bajas energías y que su límite de aceleración se encuentra aproximadamente a 10 MeV. Existen algunas mejoras técnicas como el sincrociclotrón o el ciclotrón síncrono.

- Aceleradores en línea: Este tipos de aceleradores de corriente continua son capaces de acelerar a las partículas a velocidades de GeV como para causar reacciones nucleares son los generadores *Cockcroft-Walton* o los multiplicadores de potencial.

Breve descripción de los fundamentos de AMS

Existen tres principales diferencias entre AMS y las técnicas convencionales de MS. La primera es la fuente de iones empleada en las técnicas de MS para la ionización del analito –en ICP-MS la muestra, se ioniza en un plasma de argón; en TIMS se produce el fenómeno de ionizada térmica; en RIMS un láser se encarga de la ionización–. En todos los casos, los iones producidos, siempre son positivos, son extraídos de la fuente con un potencial electrostático determinado. Por tanto, aquellos analitos que se encuentre en el mismo estado de carga tendrán la misma energía y, en la etapa siguiente, sus trayectorias dependerán básicamente de la masa.

En un sistema de AMS genérico pueden distinguirse tres zonas bien diferenciadas (Figura 2.12): la zona de baja energía, que comprende la fuente de iones y un analizador de masas; el acelerador Tandem (es importante mencionar que el acelerador Tandem es la base de la mayoría de los sistemas AMS actuales) y la zona de alta energía, provista de analizadores de masas y el sistema final de detección. A continuación se describen brevemente las funciones de cada una de ellas.

Zona de baja energía

La fuente de iones que mejor se adapta a las necesidades de AMS son las de *sputtering* con Cs^+ (el voltaje de aceleración es siempre positivo por lo que se requieren el análisis inicial de iones negativos). Estas fuentes son muy eficientes para la formación de iones, las corrientes extraídas son estables y altas, la calidad del haz en términos de dispersión espacial, angular y energética es buena. Con un diseño adecuado, los efectos de memoria y de contaminación cruzada son mínimos y puede operarse durante largos períodos de tiempo sin mantenimiento. El analizador de masas

es un sector magnético de 90° , que permite seleccionar los iones (ME/q^2), este puede estar unido a un deflector electrostático⁹ que seleccione la energía de las partículas, indistintamente antes o después.

Acelerador Tandem

Esta zona consta de tres partes: un tubo de aceleración de baja energía, que conecta la entrada del acelerador con el terminal; el terminal, que contiene al canal de *stripping*, al que se le aplica el alto voltaje; y un segundo tubo de aceleración, de alta energía, que conecta el terminal con la salida del acelerador. La función de los tubos de aceleración es la de regular el gradiente de potencial electrostático entre la línea de análisis, que se sitúa a tierra, y el propio terminal. Por ello, están formados por una serie de electrodos unidos mediante secciones aislantes y conectados entre si mediante resistencias, de forma que en su interior se produce un campo eléctrico uniforme que acelera las partículas. Durante el *stripping* se eliminan los componentes moleculares (moléculas, isóbaros, iones con una misma relación masa/carga): los iones negativos que llegan al acelerador, se ven desprovistos de electrones al interaccionar a altas energías con un blanco sólido o gaseoso. El resultado es la pérdida de electrones, los proyectiles modifican su estado de carga y, en determinadas condiciones, las moléculas se disocian en sus componentes de forma que, a la salida del terminal, el haz se compone de iones atómicos en diferentes estados de carga positivos. En términos generales, un *stripper* de gas consta de un canal cilíndrico en el que se difunde el gas (Ar o N₂), y de un sistema de vacío, independiente del de la línea de análisis, que aspira y normalmente, recircula el gas que fluye a través de los extremos de este canal. La presión del gas es máxima en el centro del canal, a la altura del orificio de entrada de gases, presentado una caída de tipo exponencial hacia los extremos, por lo que a efectos de discusiones cualitativas puede considerarse que el proceso de stripping tiene lugar en esa posición.

Zona de alta energía

El haz de iones a la salida del acelerador contiene una variedad de cationes en diferentes estados de carga y, por tanto, con diferentes energías. Para separar la masa y el estado de carga de interés, se emplea en principio un sector magnético para seleccionar los iones (ME/q^2). Como sistema de detección para identificar los iones, existen varios tipos. Sin embargo, los detectores de cámara de ionización (*Ionization Chamber*, IC), son los que más posibilidades ofrecen en AMS, con un diseño adecuado alcanzan resoluciones en energía comparables a las de los detectores de estado sólido, con la ventaja de no experimentar daños por irradiación.

Finalmente, es importante mencionar que los LOD de AMS dependen de la eficiencia en la producción de iones, del fondo instrumental y de los niveles de contaminación que pueda presentar la

⁹ Un deflector electrostático consta de un par de electrodos enfrentados, en cuyo interior se genera un campo eléctrico contenido en el plano de movimiento del haz y normal a la velocidad de las partículas, de forma que sólo aquellas con una relación concreta entre su energía y su carga (E/q , rigidez electrostática) describirán el radio del deflector.

muestra durante su preparación. La precisión en las medidas con AMS, típicamente entre 0,5 y 2%, es adecuado para una amplia gama de aplicaciones.

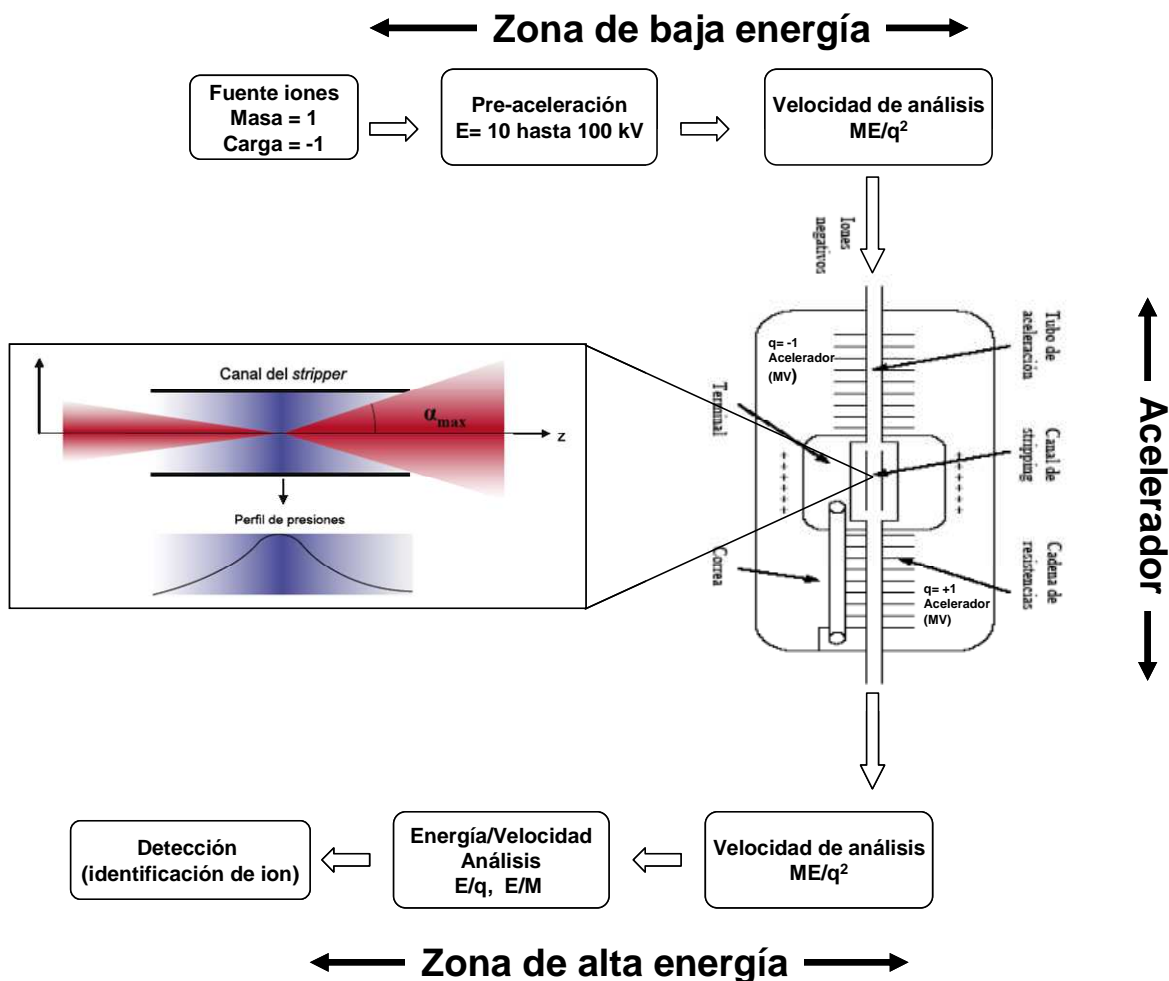


Figura 2.12 Esquema de los componentes de un sistemas de AMS genérico (E= energía de aceleración, q= carga de ion y M= masa atómica) y un esquema del canal de un stripper de gas en el que se muestra el valor de α_{max} y la forma típica del perfil de presiones. Por tanto, α_{max} sería entonces la dispersión angular máxima del haz que es transmitida hacia la segunda zona de aceleración.

Análisis de Plutonio por AMS

El último campo de AMS es el de los actínidos, en particular U y Pu, marcaje isotópico con aplicaciones en salvaguardias nucleares y vigilancia radiológica. Esta área de investigación crecerá en importancia dado el renacimiento previsto de la industria de la energía nuclear.

AMS es la técnica más potente y sensible para determinación de concentraciones ultratraza de isótopos. En el caso de medidas de Pu y dependiendo del sistema AMS empleado, se ha demostrado que es posible alcanzar LOD extremadamente bajos (entre 1-2 fg de Pu), por lo que esta técnica puede ser una interesante alternativa para las medidas del Pu en

personal expuesto [138-139]. Entre las ventajas que ofrece AMS destacan su alta precisión y exactitud en la determinación de relaciones isotópicas, la supresión de interferencias isobáricas y poliatómicas, la baja susceptibilidad a los componentes de la matriz y su gran rango dinámico [140-141]. Estas ventajas pueden traducirse en una reducción considerable en el tiempo de la preparación de la muestra, factor éste que constituye una limitación para la mayoría de los otros métodos analíticos.

En los últimos diez años, AMS ha sido cada vez más utilizado para la determinación exacta y precisa de las relaciones de isótopos de Pu en niveles ultratrazas. Entre todas las técnicas de MS, AMS es la que permite discriminar interferencias con la eficiencia más alta, lo que permite medir los isótopos de Pu, en prácticamente cualquier matriz. Hoy en día, el desarrollo de nuevos sistemas de AMS, más compactos y con tensiones de trabajo inferiores a 1 MV han demostrado su aplicabilidad para la determinación de isótopos de Pu a concentración ultratraza. Dado su menor coste de instalación y mantenimiento en comparación con las grandes instalaciones, este tipo de AMS compactos se han revelado como una herramienta competitiva frente a otras técnicas de MS.

En la Tabla 2.4 se muestra una comparación de los valores de MDA obtenidos con diferentes técnicas de MS (con fines comparativos, también se incluyen en la tabla otras técnicas radiométricas), así como el tiempo de preparación de las muestras, y el tiempo necesario para el análisis.

Tabla 2.4 Comparación de AMD de Pu en muestras de orina humana usando técnicas de MS, AS y FTA

Método	MDA(fg/muestra)	Tiempo (tratamiento)	Tiempo (análisis)	Ref
AS	87-130	2-3 días	4-6 días	36
FTA	5,2	2-3 días	4 días	74
TIMS	0,59	2-3 días	20-30 min	65
	0,53			64
	13			66
	91			53
ICP-MS	1,0	2-3 días	5-10 min	50
	1,9	3-5 h		61
	130	1-2 días		51
	0,22	2-3 días		68
AMS	13	1 día	20-40 min	67
	1,25	1 día		139

2.6 Otras técnicas de espectrometría de masas

Existen otras técnicas de MS tales como la RIMS, GDMS, SSMS y SIMS, que no son comunes en la determinación de Pu en muestras de orina humana. Sin embargo, sí son utilizadas en la determinación de Pu en estudios medioambientales.

RIMS es una técnica altamente sensible en el análisis isotópico de Pu a niveles ultra-traza [142-149]. La eficacia de la ionización es altamente selectiva y es una técnica que permite la supresión de interferencias isobáricas. Sus LOD para Pu se encuentran en un rango entre 10^6 - 10^7 átomos de Pu [142]. Los estudios realizados con RIMS se basan hasta el momento en muestras medioambientales. Sin embargo, los instrumentos RIMS son desarrollos experimentales que no se encuentran disponibles en el comercio. El manejo para el análisis de rutina de Pu es altamente costoso y poco usado comparado con otras técnicas de MS.

SIMS es una técnica analítica de superficie cuya principal aplicación es la determinación del contenido isotópico en superficies, aunque también permite realizar perfiles de profundidad. La determinación de Pu se puede llevar a cabo

sobre pequeñas partículas, aerosoles, hormigones, semiconductores, etc. Esta técnica se aplica, por tanto, en la caracterización de materiales y posee LOD muy bajos, en el rango de ng g^{-1} de muestra [147-148].

La técnica de GDMS se ha establecido como una poderosa y eficiente técnica analítica para determinar elementos traza en sólidos. Debido a su capacidad para realizar análisis isotópico, GDMS es una técnica adecuada para la determinación Pu en matrices medioambientales [149-150], o para análisis de calidad en determinados materiales (por ejemplo, combustible nuclear).

Finalmente, SSMS es una de la técnica de espectrometría de masas más antiguas. Durante muchas décadas la técnica dominó en los métodos de MS (los primeros instrumentos construidos fue entre 1960 y 1970) en el análisis de trazas en suelos, metales de alta pureza, materiales cerámicos y especialmente en muestras geológicas. Debido al alto costo experimental y a que se trata de una técnica que consume mucho tiempo durante el análisis [151], y debido también al gran esfuerzo invertido en el desarrollo e innovación de nuevas técnicas de MS (tales como GDMS, ICP-MS, LA-ICP-MS, RIMS y AMS), los espectrómetros de masas con fuente de chispa no se fabrican en la actualidad ni se encuentran disponibles comercialmente.

CAPÍTULO 3. EXPERIMENTAL

PARTE A. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales, reactivos, patrones estándar para ICP-MS y patrones radiactivos de referencia

Reactivos

Todos los reactivos utilizados en este trabajo fueron adquiridos a la empresa Merck España, de calidad para análisis, ISO, ACS. A continuación se enumeran los reactivos utilizados.

- 1-Octanol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{OH}$).
- Acetona (CH_3COCH_3).
- Ácido clorhídrico (HCl) concentrado (35%).
- Ácido nítrico (HNO_3) concentrado (65%).
- Ácido ortofosfórico (H_3PO_4) concentrado (85%).
- Ácido pícrico ($\text{C}_6\text{H}_2\text{OH}(\text{NO}_2)_3$).
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado (95%).
- Aluminio puro en polvo, de 500 mallas.
- Clorhidrato de hidroxilamina (HONH_2Cl).
- Disolución certificada de hierro grado ICP-MS de $1000 \text{ mg Fe l}^{-1}$.
- Disolución certificada multi-elementos XXIII (TUNE): Ba, B, Co, Fe, Ga, In, K, Li, Lu, Na, Rh, Sc, Y, Tl, y U), grado ICP-MS de 1 ng mL^{-1} de cada elemento.
- Hidróxido de amonio (NH_4OH) concentrado (25%).
- Hidróxido de sodio (NaOH).
- Metanol (CH_3OH).
- Nitrato de aluminio nonahidratado ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$).
- Nitrito de sodio (NaNO_2).
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) concentrado (30%).
- Sulfato ferroso (FeSO_4).

Materiales

Para la recogida de las muestras de orina se utilizaron botellas de polietileno de 1 ó 2 L. En la preparación de ácidos diluidos, disoluciones, patrones y muestras de orina, fue usado diverso material volumétrico de vidrio

(matraces, pipetas, probetas, buretas, etc.) de clase A. Para la preparación de patrones de referencia se emplearon pipetas Eppendorf Reference[®] (Eppendorf Ibérica, S.L.), de diferentes aforos. Para la preparación de los patrones radiactivos de referencia se utilizó una balanza analítica Mettler Toledo, modelo AT 250. Para la obtención de HNO₃ ultrapuro (análogo al grado *suprapur*) se utilizó un sistema de destilación de ácidos tipo “subboiling” Milestone, modelo Duopur. El agua desionizada de calidad ultrapura (18 MΩ) para análisis elemental por ICP-MS, fue obtenida con un sistema de purificación Millipore ELIX-3, acoplado a un Milli-Q ELEMENT (Millipore Ibérica, S.A.). Durante la preparación de las muestras se utilizaron placas calefactoras con y sin agitación de la compañía Selecta. También se empleó una centrifuga Sigma, modelo K330. La digestión ácida de la orina se efectuó con un digestor de microondas Milestone, modelo ETHOS-1. En la separación radioquímica del Pu se emplearon resinas de intercambio iónico AG1X2 y AG1X8 (BioRad Laboratories, Inc.) y resinas de extracción en fase sólida TEVA (Eichrom Industries, Inc). Las columnas cromatográficas de vidrio, provistas con llave de regulación de caudal, que actuaron como soporte durante los procesos de separación radioquímica con resina AG1X2 y AG1X8 fueron suministradas por Sociedad Hermanos Álamo, S.L. El sistema empleado para la electrodeposición de Pu fue un modelo EDP-6, suministrado por Bunsen, y las planchetas de acero inoxidable pulidas a espejo (diámetro 25 mm) fueron suministradas por la compañía Tecnasa. Para la preparación de los cátodos de AMS se empleó una mufla Milestone, modelo PYRO, un kit ensamblaje para los cátodos suministrados por High Voltage Engineering Europa B.V. y, finalmente, una prensa hidráulica manual de 15 ton, provista de un adaptador de 0 a 5 ton, suministrada por Teknokroma.

Patrones radiactivos de referencia

La disolución madre del patrón de referencia de ²³⁹Pu (actividad: 876 Bq mL⁻¹) fue suministrada por el National Physical Laboratory (NPL, England) y diluida en HNO₃ 2 M para obtener una disolución con una actividad final de 7,89 mBq mL⁻¹ (3,42 pg mL⁻¹). La disolución patrón de referencia se caracterizó

con AMS en el CNA. Los detalles sobre su composición isotópica se indican en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1 Composición de la disolución patrón de ^{239}Pu

Isótopo	Átomos (%)	Actividad (mBq mL^{-1})
^{239}Pu	91,417	$7.21\text{E}+00 \pm 1.95\text{E}-01$
^{240}Pu	7,911	$6.24\text{E}-01 \pm 1.68\text{E}-02$
^{241}Pu	0,628	$4.95\text{E}-02 \pm 1.34\text{E}-03$
^{242}Pu	0,033	$2.60\text{E}-03 \pm 7.02\text{E}-05$
^{238}Pu	0,011	$8.68\text{E}-04 \pm 2.34\text{E}-05$

Durante las investigaciones se emplearon, para su uso como patrón interno, dos disoluciones patrón de ^{242}Pu , las cuales fueron suministradas también por el NPL (ver detalles en la Tabla 3.2).

Tabla 3.2 Características de las disoluciones patrón de ^{242}Pu

Referencia	Procedencia	Actividad ^{242}Pu (mBq g^{-1})	Masa total de la solución (g)
E4852/99	NPL	$0,320 \pm 0,003$	$3,01 \pm 0,02$
E05080352	NPL	$1,011 \pm 0,008$	$10,01 \pm 0,02$

La primera disolución de trazador se preparó con $2,956 \pm 0,002$ g de la solución patrón de referencia E4852/99 ($0,946 \pm 0,009$ Bq), que se enrasaron a 50 mL con HNO_3 2M. A continuación, se pesaron diez fracciones de 1 mL de esta disolución, obteniéndose una densidad promedio de $1,073 \pm 0,004$ g mL^{-1} . La disolución del trazador de ^{242}Pu así preparada contiene una actividad de $19,16 \pm 0,19$ mBq de ^{242}Pu por mL.

La segunda disolución de trazador de ^{242}Pu se preparó usando toda la solución madre con referencia E05080352 ($10,11 \pm 0,06$ Bq de ^{242}Pu) y aforando a 500 mL con HNO_3 2M. De nuevo, la densidad de la disolución resultante del trazador se calculó por pesada de diez fracciones de 1 mL, obteniéndose una densidad promedio de $1,0588 \pm 0,0004$ g de ^{242}Pu por mL. Así, la segunda disolución de trazador de ^{242}Pu contiene una actividad final de $20,27 \pm 0,13$ mBq mL^{-1} .

La disolución madre del estándar de ^{237}Np fue suministrada por Amersham International, con una actividad total $45,86 \pm 1,21 \text{ kBq g}^{-1}$ (NGZ.44). Se emplearon $0,071 \pm 0,002 \text{ g}$ para la preparación del patrón, que fueron aforados a 1 L con HCl 0,1M. La actividad total en peso de muestra es $3,256 \pm 0,086 \text{ Bq g}^{-1}$.

Fuentes patrón para AS

La calibración del espectrómetro alfa, en energías y eficiencia, requiere el empleo de fuentes patrón. Con este fin, se emplearon dos fuentes radiactivas certificadas que fueron suministradas por el Laboratorio de Metrología de Radiaciones Ionizantes-Metrología de Radionucleidos CIEMAT. Para calcular la eficiencia del detector, se utilizó una fuente de ^{241}Am (referencia MRC2009-005) con una actividad alfa total de $69,2 \pm 1,1 \text{ Bq}$. Para la calibración del equipo en energías, se utilizó una fuente compuesta por una mezcla de ^{233}U , $^{239+240}\text{Pu}$ y ^{241}Am (referencia MRC2008-013), con una actividad alfa total de $102,9 \pm 1,2 \text{ Bq}$.

3.2 Instrumentación

Espectrofotometría

La determinación de creatinina se llevo a cabo mediante análisis por espectrometría visible, empleando un espectrofotómetro Zuzi, Modelo 4211/20, suministrado por AUXILAB. S.L. El instrumento abarca un rango de longitud de onda desde 325 nm hasta 1000 nm.

Espectrometría alfa (AS)

En la Figura 3.1 se muestra el espectrómetro alfa usado para la cuantificación de Pu en muestras de orina humana. Se trata de un equipo CANBERRA, modelo Alpha Analyst 7200-12, con 6 cámaras dobles (12 detectores PIPS marca CANBERRA, modelo A-450) y bomba de vacío marca Edwards, modelo RV5. Los detectores tienen un área activa de 450 mm^2 y su resolución nominal de energía, expresada como anchura del pico a mitad de su altura máxima (FWHM), es de 18 keV. El entorno de trabajo para el manejo del sistema de AS es un CANBERRA, modelo Genie 2000 (S500C), junto con un

programa de AS para la evaluación de los espectros marca CANBERRA, modelo APEX-ALPHA.

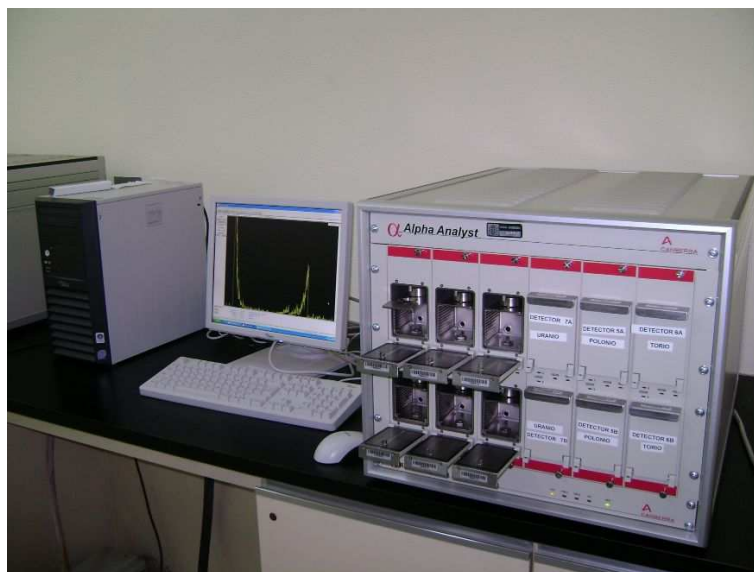


Figura 3.1 Espectrómetro CANBERRA, modelo Alpha Analyst 7200-12.

Espectrometría de masas de alta resolución con fuente de plasma acoplada inductivamente (ICP-SFMS)

El instrumento empleado durante las investigaciones es un Finnigan Element XR, de la compañía Thermo Fisher Scientific (ver la Figura 3.2). Como ya se mencionó con anterioridad en el resumen, el equipo fue instalado en un laboratorio construido en la sede del CIEMAT de Moncloa (Madrid), el cual cumple con las especificaciones de sala limpia clase ISO 6.

El ICP-SFMS Element XR está basado en el modelo Element 2. La principal diferencia entre ambos instrumentos radica en que el Element XR extiende su rango dinámico hasta en tres órdenes de magnitud respecto al Element 2. El Element XR puede operar en tres modos de detección durante el análisis: modo de recuento de pulsos (el de mayor sensibilidad), modo analógico y detector de Faraday. Es posible programar el equipo para que éste cambie automáticamente de modo de detección en función de la concentración de la muestra (Figura 3.3.).



Figura 3.2 Laboratorio sala limpia y espectrómetro de masas de alta resolución “Element XR” en el CIEMAT (Madrid). En la imagen se muestra el acoplamiento con el desolvatador Aridus y el muestreador automático ASX-520, ambos de CETAC Technologies.

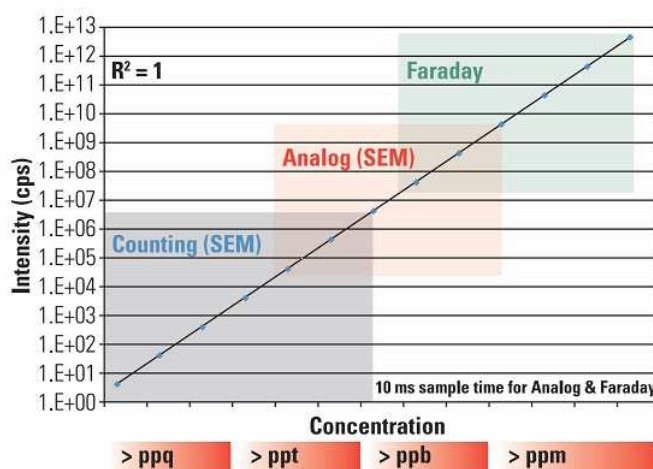


Figura 3.3. Rango de detección para la combinación entre los detectores de Faraday y SEM (Secondary Electron Multiplier) en el instrumento Element XR. El gráfico muestra las intensidades medidas en soluciones monoelementales de ^{175}Lu con concentraciones entre 2 fg g^{-1} y $2000 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$.

Espectrometría de masas con aceleradores (AMS)

El dispositivo utilizado es un sistema de AMS compacto de 1 MV, fabricado por High Voltage Engineering Europa B.V. y se denomina SARA

(Spanish Accelerator for Radionuclide Analysis). SARA está instalado en el Centro Nacional de Aceleradores (CNA), en Sevilla (Figura 3.4).

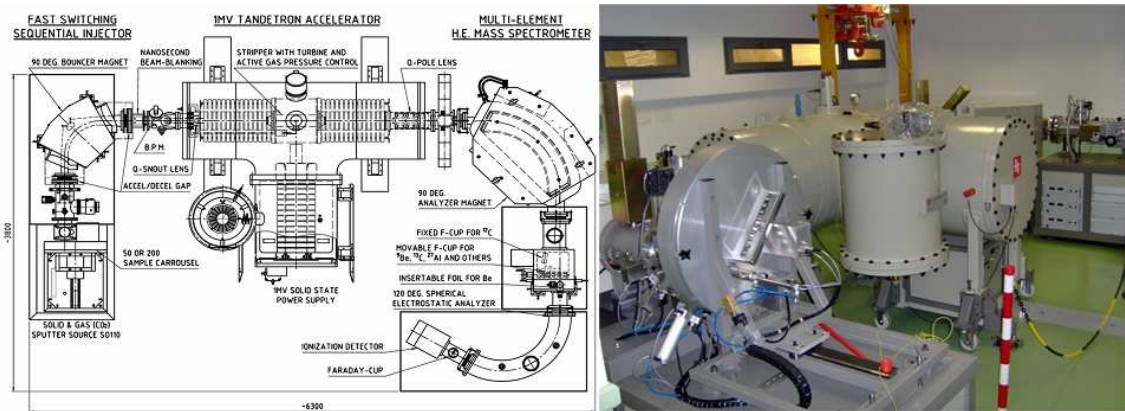


Figura 3.4 Diseño y laboratorio de la instalación de AMS "SARA" en el CNA (Sevilla).

3.3 Pretratamiento de las muestras de orina humana

En la Figura 3.5 se muestra un cuadro resumen del procedimiento para la aceptación o rechazo de muestras de orina que se aplica rutinariamente en el Laboratorio de Bioeliminación (Unidad de Dosimetría de Radiaciones Ionizantes) del CIEMAT para el control dosimétrico de los trabajadores profesionalmente expuestos [152]. A continuación se describen en detalle cada uno de los procesos involucrados.

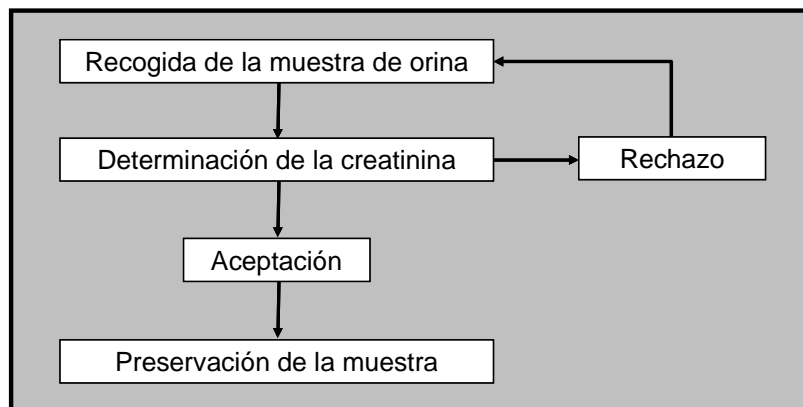


Figura 3.5 Procedimientos usados en el pre-tratamiento de la muestras de orina humana.

Recogida de la orina

El protocolo de recogida de las muestras de orina aquí expuesto, está basado en el procedimiento que aplica rutinariamente el Laboratorio de Bioeliminación de la Unidad de Dosimetría de Radiaciones Ionizantes del CIEMAT (*PE-IA.DR-15*) [153].

Para la determinación Pu mediante AS, ICP-SFMS y AMS se recogieron dos tipos de muestras:

- Muestras de orina de 24 h: se deshecha la primera micción de la mañana del primer día, recogiendo todas las restantes en una botella de plástico de 2 L de capacidad, incluyendo la primera micción del día siguiente. Cada botella se etiqueta con el nombre y los apellidos de la persona, indicando la fecha y la hora del inicio de la recogida y finalización de muestreo.
- Muestreo de orina de micción única: se recoge una micción, preferentemente la correspondiente a la primera orina de la mañana, en una botella de plástico de 1 L. Cada botella se etiqueta con el nombre y los apellidos de la persona controlada, indicando la fecha y la hora del inicio y finalización del muestreo.

En los estudios de optimización del volumen de muestra de orina para el análisis de Pu, se utilizaron las fracciones siguientes:

1. Empleo de diferentes fracciones a partir de la orina de 24 h (10, 25, 50, 100, 200, 250, 500 mL).
2. La primera micción de la mañana.
3. Muestra total (orina de 24 h).

Determinación de creatinina

De acuerdo con Comisión Internacional de Protección Radiológica (ICRP-89) [154], el hombre estándar excreta diariamente 1,6 L de orina y 1,7 g de creatinina, y los valores considerados estándar para la mujer son de 1,2 L de orina y 1,0 g de creatinina por día. Estos son los valores que determinan la aceptación o rechazo de una muestra de orina con fines dosimétricos por bioeliminación. La determinación de creatinina se basó en el procedimiento específico que se utiliza rutinariamente en el CIEMAT [155]. A continuación se

detalla el procedimiento para la determinación de la creatinina en las muestras de orina humana.

Determinación de creatinina en muestras de orina humana

1. Antes de preservar la muestra con HNO_3 se toma una alícuota de 5 mL.
2. Encender el equipo y esperar 20 min para que se caliente la lámpara.
3. Ajustar la absorbancia en el equipo a cero y fijar la longitud de onda a 492 nm.
4. Los reactivos (hidróxido de sodio y ácido pícrico) deben estar a temperatura ambiente.
5. Se realiza una dilución 1:20 del estándar de orina en agua Milli-Q.
6. Colocar en la cubeta del espectrofotómetro, y por este orden, 0,2 mL de la disolución diluida del estándar, 1 mL de hidróxido de sodio y 1 mL de ácido pícrico.
7. Se dejan reaccionar los reactivos con la muestra durante 90 s.
8. Se realizan dos lecturas sucesivas, la primera a los 20 s, y la segunda 60 s después de la primera.
9. Seguir el mismo procedimiento (puntos 5 al 8) con las muestras de orina.

La determinación de los niveles creatinina en orina humana se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\text{Creatinina en orina (mg l}^{-1}\text{)} = \frac{C_{\text{STD}} \times \text{FD} \times V_{24\text{h}} \times A_m}{A_{\text{STD}}} \quad (\text{ecuación 3.1})$$

Donde:

C_{STD} es la concentración de creatinina, en mg L^{-1} , del estándar de orina.

FD es el factor de dilución.

$V_{24\text{h}}$ corresponde al volumen de la muestra de orina excretado en 24 h.

A_m es la absorbancia medida en la muestra.

A_{STD} es la absorbancia medida en el estándar de orina.

Preservación de las muestras de orina

La preservación de las muestras se realizó adicionando HNO_3 concentrado a la orina hasta obtener un valor de $\text{pH} = 1$. La finalidad de la

acidificación de la muestra es favorecer la disolución de los analitos en la muestra, minimizando en lo posible su pérdida por sorción en las paredes de la botella de muestreo. Así, a cada muestra de orina de 24 h se le añadió entre 100 y 150 mL de HNO_3 concentrado, y a cada muestra de micción única (primera orina de la mañana) se le añadió 12 mL de HNO_3 concentrado. Una vez aciduladas, las muestras se conservaron hasta su análisis en nevera, a 4° C, para evitar su descomposición, formación de precipitados, posibles contaminaciones por microorganismos, etc⁶. Finalmente, se indicó en cada botella la cantidad de ácido añadido y se aseguró la hermeticidad del envase.

3.4 Preparación de las muestras de orina

En el diagrama de la Figura 3.6 se indican cada uno de los procesos empleados durante la preparación de las muestras de orina. En los siguientes subapartados se explica cada uno de ellos.

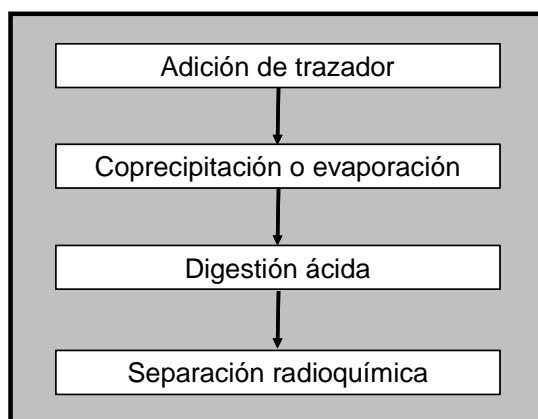


Figura 3.6 Secuencia de procesos para el bioensayo de muestras de orina humana

Adición del trazador

Con el fin de evaluar el rendimiento de la separación radioquímica del Pu, se adicionó ^{242}Pu como patrón interno a las muestras de orina. En general, la concentración de ^{242}Pu añadida se fijó según las necesidades de cada experimento. El procedimiento se detalla a continuación:

⁶ Se debe procurar analizar las muestras lo antes posible. En estas investigaciones, el plazo máximo de conservación en nevera no excedió de 7 días.

1. La muestra de orina de 24 h previamente acidificada se transfiere a una probeta de 2 L y se mide su volumen.
2. La probeta con la muestra se coloca encima de una placa calefactora con la temperatura fijada a 350 °C, y con agitación constante a 500 rpm⁷.
3. Para minimizar pérdidas del analito, se enjuaga la botella que contenía la muestra de orina con 4 porciones de 15 mL de HNO₃ 8M, transfiriendo cada enjuague a la probeta que contiene la muestra.
4. Se adiciona 1 mL de 1-Octanol a la muestra, para evitar la producción de burbujas.⁸
5. Una vez alcanzada la temperatura idónea (entre 70 y 80 °C), se mantiene la muestra en esas condiciones de temperatura y agitación durante 1 h más, para asegurar su homogeneización.
6. A continuación, se adiciona el trazador ²⁴²Pu y se deja homogeneizando durante 1 h más en las mismas condiciones.

Procesos de coprecipitación y evaporación

El proceso de coprecipitación tiene como objeto reducir la presencia de sales (esto es especialmente importante cuando se manejan muestras de 24 h), preconcentrar el analito y reducir considerablemente el volumen de muestra a manejar (en muestras de 24 h, la masa seca de precipitado se encuentra en el rango de 1 a 2 g). La coprecipitación es el proceso estándar que se aplica en el Laboratorio de Bioeliminación (Unidad de Dosimetría de Radiaciones Ionizantes del CIEMAT) para el análisis de rutina de isótopos de Pu en muestras de orina de 24 h.

El proceso de evaporación en placa calefactora es una alternativa interesante a la coprecipitación, ya que presenta la ventaja de su rapidez de ejecución. Su aplicación resulta especialmente interesante en el tratamiento de pequeños volúmenes de orina, aunque durante estas investigaciones se han llegado a procesar volúmenes de muestra por evaporación de hasta 600 mL. En este trabajo, las muestras de orina procesadas por evaporación

⁷ En esas condiciones la muestra de orina alcanzará al cabo de una hora, aproximadamente, una temperatura entre 70 y 80 °C.

⁸ En el caso de las muestras de orina de micción única se adiciona 1-Octanol proporcionalmente al volumen de la muestra.

correspondieron a alícuotas de muestras de 24 h. A continuación se detalla cada uno de los procesos.

Proceso de coprecipitación.

1. Una vez finalizado el proceso de adición de trazador (^{242}Pu), se mantienen las mismas condiciones de homogeneización de la muestra en la probeta (placa calefactora a una temperatura de 350 °C y agitación constante de 500 rpm).
2. Adicionar 1 mL de H_3PO_4 concentrado y se deja agitando 30 min.
3. Añadir NH_4OH concentrado hasta alcalinidad (aproximadamente el 10% del volumen de la muestra) manteniendo las condiciones de temperatura y agitación durante 1 h más.
4. Retirar la probeta con la muestra de la placa calefactora y dejar sedimentar entre 20 y 24 h.
5. Decantar el sedimento (hasta un volumen de, aproximadamente, 200 mL). Homogeneizar la muestra por agitación y transferirla a tubos de centrífuga de 100 mL de capacidad. Enjuagar la probeta con agua Milli-Q (3 veces x 20 mL) y transferir a un tubo centrífuga de 100 mL. Centrifugar a 3000 rpm durante 5 min. Eliminar el sobrenadante y unificar el precipitado en un único tubo (usar agua Milli-Q para los lavados), centrifugar de nuevo y eliminar el sobrenadante.
6. Adicionar al precipitado 10 mL de HNO_3 8M y 3 mL, gota a gota, de H_2O_2 concentrado, agitando lentamente⁹.
7. La disolución resultante está lista para el proceso de digestión ácida.

Proceso de evaporación

1. Tomar las alícuotas de orina en matraces aforados.
2. Transferir las alícuotas de orina a sendos vasos de precipitados:
 - a) Para las alícuotas de orina en un rango de 500 – 600 mL, se emplearon vasos de precipitados de 1 L.
 - b) Para las alícuotas en un rango de 100 – 400 mL, se utilizaron vasos de precipitados de 500 mL.

⁹ Si este proceso no se realiza lentamente, la oxidación de la materia orgánica podría ocurrir violentamente (efervescencia súbita, proyecciones fuera del tubo).

- c) Para las alícuotas de orina de volumen inferior a 100 mL, se usaron vasos de precipitados de 100 mL.
3. Evaporar a sequedad las fracciones de orina en una placa calefactora. No exceder de 80 – 90 °C para evitar proyecciones fuera del vaso de precipitados.
 4. Adicionar 30 mL de HNO₃ concentrado al residuo seco¹⁰ y evaporar a sequedad de nuevo. Repetir este paso 2 veces más (digestión ácida parcial).
 5. Finalmente, disolver el residuo seco en 10 mL de HNO₃ 8M.
 6. La disolución resultante está lista para el proceso de digestión ácida.

Digestión ácida

Cada muestra preparada según se explica en el apartado de los procesos de coprecipitación y evaporación, se trasvasó desde el tubo de centrífuga o vaso de precipitado a su respectivo reactor de teflón, previamente pesado, lavando las paredes de cada tubo o vaso con dos fracciones de 2,5 mL de HNO₃ 8M y transfiriendo los lavados a su respectivo reactor de teflón. En el caso de las muestras tratadas por el proceso de evaporación, se adicionaron al reactor 3 mL de H₂O₂ concentrado. Una vez cerrados los reactores, las muestras fueron sometidas a la digestión asistida por microondas según el programa indicado en la Tabla 3.3. Una vez finalizada la digestión ácida, se dejaron enfriar las muestras y se trasvasaron a sendos vasos de precipitado. Para evitar pérdidas de analito, cada reactor se lavó 3 veces con fracciones de 5 mL de HNO₃ 8M. Finalmente, las muestras se evaporaron a sequedad en la placa calefactora a una temperatura entre 80 y 100 °C.

¹⁰ A las alícuotas de orina de volumen inferior a 100 ml se les adicionan 10 ml de HNO₃ concentrado.

Tabla 3.3 Programa empleado en el proceso de digestión ácida.

Temperatura (°C)	Tiempo de reacción (min)	Potencia (W)
0	0	0
210	10	1000
210	30	1000
50	20	0

Separación radioquímica

La separación radioquímica tiene la función de separar, purificar y concentrar los radionucleidos de interés. En estas investigaciones, se emplearon resinas de intercambio iónico (BioRad AG1X2 y AG1X8) y de extracción en fase sólida (Eichrom TEVA). En la Figuras 3.7 y 3.8 se muestran los procedimientos empleados para la purificación de Pu con ambos tipos de resinas.

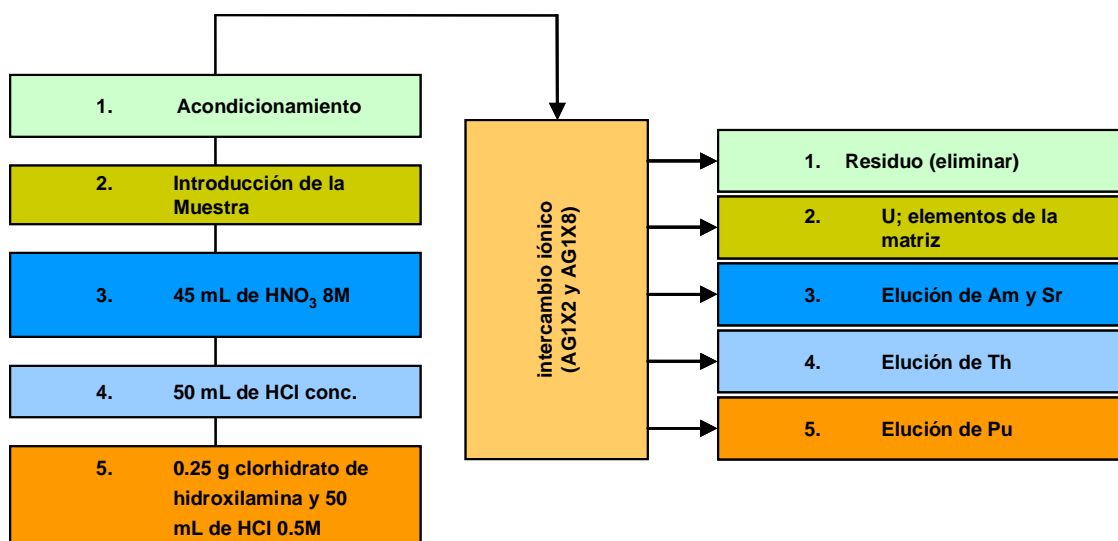


Figura 3.7 Proceso de purificación de Pu usando resina AG1X2 y AG1X8 [156]

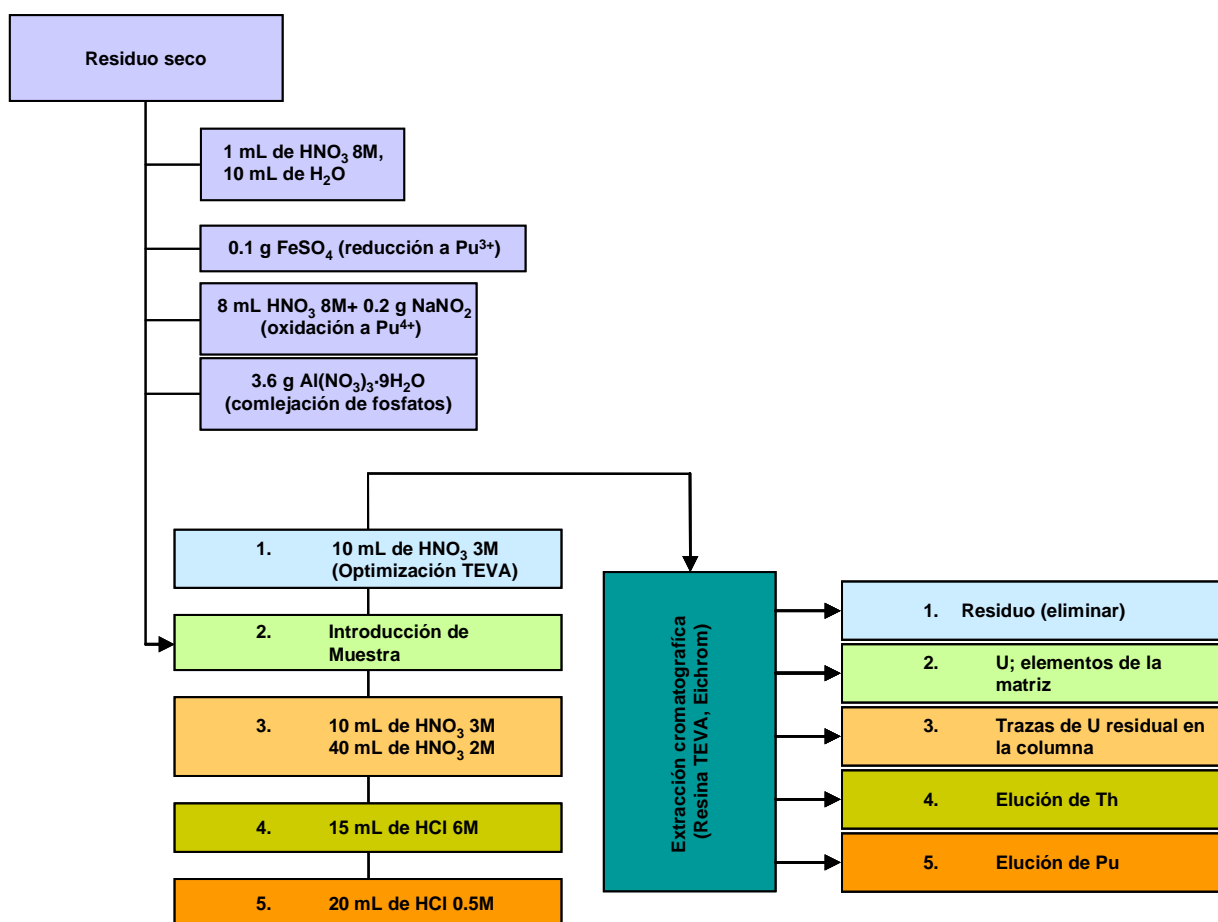


Figura 3.8 Proceso de purificación de Pu usando resina TEVA [141].

Las resinas AG1X2 y AG1X8 poseen un tamaño de partícula entre 50–100 μm y 100–200 μm , respectivamente. La fase estacionaria contiene aniones básicos, grupos funcionales de amonio cuaternario unidos a copolímeros de estireno y divinilbenceno. Cada columna de resina TEVA contiene aproximadamente 7 g de resina. El tamaño de partícula es de 100–150 μm y se suministran en medio ácido. Las propiedades de la resina TEVA están basadas en la alta capacidad separativa de la cromatografía de partición en fase inversa combinada con extractantes selectivos como fase estacionaria. La fase estacionaria está constituida por cadenas de carbonos (C18 y C10) con cloruro de tri-n-octilmetilamonio (Aliquat336). El Aliquat336 es selectivo para Th, Np, Pu, Tc. En la Figura 3.9 se ilustra un ejemplo de las reacciones que se verifican en la extracción de Pu(IV) con Aliquat336.

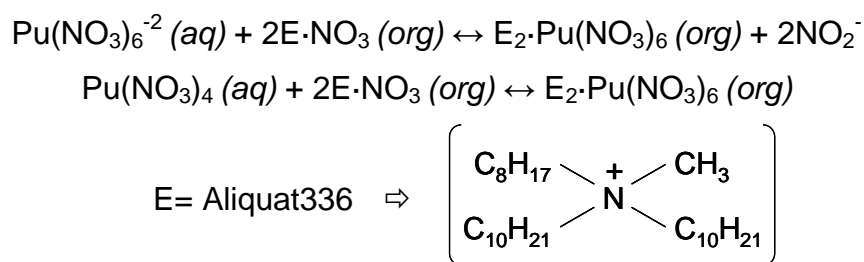


Figura 3.9 Reacciones de transferencia de Pu(IV) desde la fase acuosa a la fase orgánica (Aliquat336) de la resina TEVA. En el ejemplo se muestra la capacidad de Aliquat336 para acomplejar tanto especies aniónicas de Pu (formación de complejos mediante intercambio de aniones) como neutras.

Preacondicionamiento de las resinas AG1X2 y AG1X8

1. La resina suministrada de fábrica se depositó en un vaso de precipitados de 5 L.
2. Se adicionaron 2 L de agua Milli-Q y se mantuvo en agitación constante durante 1h.
3. El procedimiento anterior se repitió 5 veces.
4. La resina pre-acondicionada se mantuvo en medio acuoso hasta su uso.

Preparación de las columnas y acondicionamiento de las resinas AG1X2 y AG1X8

1. A las buretas previamente rotuladas, se les introdujo una cantidad de lana de vidrio suficiente para retener la carga de resina con la que se rellena la bureta, pero sin que ésta se obstruya.
2. Con la llave de la bureta en la posición de cerrado, se agregó agua Milli-Q hasta el 25% de su capacidad.
3. Seguidamente, se agregó la resina hasta el 75% de la capacidad de la bureta (aproximadamente equivalen a 10 g resina en medio acuoso).
4. El acondicionamiento de la resina se realizó lavando la resina con porciones de 15 mL de HNO₃ 8M (10 a 15 lavados). El caudal de elución debe fijarse con la llave de la bureta en, aproximadamente, 1 mL min⁻¹.

5. La resina está acondicionada cuando la prueba de cloruros es negativa¹¹.

Separación radioquímica de Pu con resinas AG1X2 y AG1X8 (Figura 3.7)

1. Las muestras obtenidas en el proceso de digestión ácida se disolvieron en sendos vasos de precipitados con 30 mL de HNO_3 8M y se transfirieron a sus respectivas columnas de resina previamente acondicionadas.
2. Cada vaso de precipitados se lavó con 15 mL de HNO_3 8M y cada lavado se transfirió a su correspondiente columna cromatográfica. La fracción eluida en los pasos 1 y 2 correspondería al U.
3. A continuación cada columna se lavó 3 veces con fracciones de 15 mL de HNO_3 8M (esperando a que el líquido haya pasado completamente a través de la columna antes de adicionar más ácido de lavado). Esta segunda fracción correspondería a la elución del Am y del Sr. Los isótopos de Pu siguen retenidos en la columna cromatográfica.
4. Seguidamente, se adicionaron 40 mL de HCl concentrado a cada columna y se dejó eluir completamente. La fracción eluida correspondería al Th.
5. Finalmente, se procedió a la elución de la fracción correspondiente al Pu. Para ello, se adicionaron sobre la resina entre 0,2 y 0,25 g de clorhidrato de hidroxilamina, seguido de dos fracciones de 15 mL de HCl 0,5 M.
6. Las disoluciones ácidas de Pu purificado, obtenidas durante la separación radioquímica, se evaporaron lentamente a sequedad en la placa calefactora, a 60 °C.

¹¹ La prueba de cloruros se realiza añadiendo 0.1M de AgNO_3 gota a gota, sobre el líquido procedente del lavado de la resina. La formación de precipitado de AgCl (blanco) indica que la prueba es positiva (existen cloruros en la resina) por lo que será necesario seguir lavando hasta su eliminación completa.

Separación radioquímica de Pu con resina TEVA (Figura 3.8)

1. El residuo seco obtenido en la digestión ácida se disolvió en vaso de precipitados con 1 mL de HNO_3 8M, añadiendo a continuación 10 mL de H_2O .
2. A la muestra disuelta se le adicionaron 0,1 g de FeSO_4 (reducción a Pu^{+3}), agitando suavemente hasta disolución completa.
3. A continuación, se adicionaron a la disolución 8 mL de HNO_3 8M y 0,2 g de NaNO_2 (oxidación a Pu^{+4}), agitando suavemente como en el paso anterior.
4. Seguidamente, se añadieron 3,6 g de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (formación de complejos de fosfato de aluminio), agitando suavemente para disolver.
5. Acondicionamiento de la resina TEVA: se eliminó el sobrenadante que viene de origen en la columna y, a continuación, se acondicionó la resina eluyendo con 10 mL de HNO_3 3M.
6. El proceso de purificación de Pu comienza con la transferencia de la muestra (que se encuentra en disolución como Pu^{+4} estable) a la columna cromatográfica TEVA. El Pu queda retenido en la resina, y la fracción eluida corresponde al U.
7. Se añadieron a la columna, por este orden, 10 mL de HNO_3 3M y 40 mL de HNO_3 2M. La fracción eluida corresponde a trazas de U residual en la columna.
8. Se adicionaron a continuación 15 mL de HCl 6M. La fracción eluida corresponde al Th.
9. Finalmente, se adicionaron a la columna 50 mL de HCl 0,5M, correspondiendo la fracción eluida al Pu.
10. La fracción obtenida en el paso anterior se evaporó lentamente a sequedad en placa calefactora a 60 °C.

3.5 Electrodeposición

Finalizada la separación radioquímica del Pu, las muestras correspondientes fueron preparadas de acuerdo con el método de Hallstadius [157]. En nuestro desarrollo experimental (Figura 3.10), la electrodeposición se

efectuó sobre planchetas de acero inoxidable (25 mm de diámetro y 1 mm de espesor). La plancheta actúa como cátodo de la celda de electrólisis, mientras que el ánodo es un hilo de platino. Durante el la electrodeposición, el voltaje se fijó en 15 V y la corriente en 1,5 mA. La distancia entre los electrodos se mantuvo a 7 mm. Esto produce un depósito en la plancheta con una superficie de aproximadamente 22 mm de diámetro. A continuación se explica con detalle el proceso de electrodeposición.

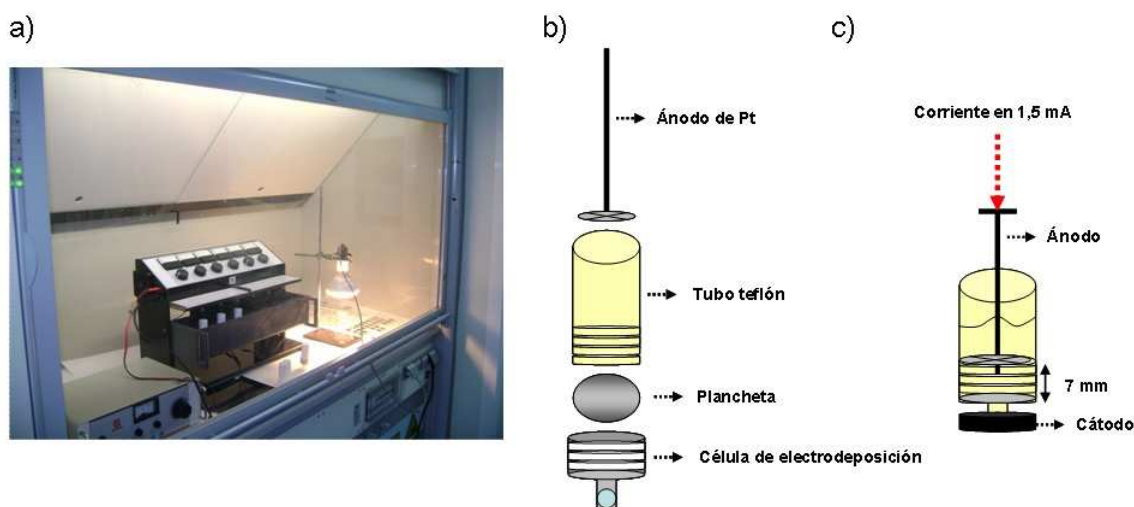


Figura 3.10 a) Sistema de electrodeposición utilizado en la preparación de muestras de Pu para su análisis mediante AS. Con este equipo es posible preparar simultáneamente un máximo de 6 muestras. b) Detalle de una de las celdas de electrodeposición empleadas. c) Detalle del montaje final.

Proceso de electrodeposición

1. Concluida la separación radioquímica, se adicionaron 3 mL de HNO_3 concentrado sobre el residuo seco de Pu, evaporando lentamente en la placa calefactora (60 °C) hasta sequedad.
2. A continuación, se adicionó 1 mL de Na_2SO_4 0,3 M, evaporando lentamente a sequedad como en el paso anterior.
3. Se añadieron 0,3 mL de H_2SO_4 concentrado y 4 mL de agua Milli-Q, agitando suavemente para disolver sales y homogeneizar la disolución.

4. Seguidamente, se adicionaron 2 gotas de indicador azul de timol para medir el pH¹².
5. Se ajustó el pH de la disolución a 2,5 mediante adición, gota a gota, de NH₄OH concentrado¹³, y se transfirió a la celda de electrodeposición previamente montada.
6. El vaso que contenía la disolución de Pu se enjuagó con 5 mL de H₂SO₄ al 1% v/v, que se transfirieron a la celda de electrodeposición para evitar pérdidas del analito y evitar fenómenos de sorción en las paredes de la célula de electrodeposición.
7. Nuevamente, se ajustó el pH entre 2,1 y 2,4 con NH₄OH concentrado.
8. Se acopló la celda al equipo de electrodeposición prestando especial atención a que la distancia entre ánodo (hilo de Pt) y cátodo (plancheta) se mantenga a 7 mm.
9. Durante la electrodeposición de Pu se fijó el voltaje a 15 V y la corriente a 1,5 mA. El tiempo necesario para completar el proceso es de 1 h.
10. Finalizada la electrodeposición, se desmontó la celda y se extrajo la plancheta con el depósito de Pu, aclarándola con 5 mL de NH₄OH al 1% v/v.
11. Finalmente, las planchetas se secaron utilizando una fuente térmica (lámpara de 1 kW).

3.6 Reevaluación de planchetas: procedimientos para la recuperación del Pu electrodepositado

Para poder efectuar la reevaluación de las planchetas (medidas previamente por AS) mediante ICP-SFMS y AMS fue necesario recuperar el Pu electrodepositado en las planchetas. Con este objeto, se desarrollaron, ensayaron y optimizaron tres procedimientos de extracción ácida, los cuales se describen con detalle a continuación.

Procedimiento 1

1. Las planchetas se sumergieron durante toda la noche en sendos vasos de precipitados con 20 mL de HNO₃ 3M.

¹² El azul de timol se emplea como indicador de la acidez del medio. Vira en el intervalo de 1,2 – 2,8, presentando coloración roja en un medio más ácido y amarilla en un medio menos ácido. La coloración amarilla se mantiene de 2,8 hasta el intervalo 8,0 – 9,6 donde vira a azul

¹³ Aunque se haya añadido indicador es recomendable, además, utilizar tiras reactivas de pH.

2. Después, se extrajeron las planchetas y se aclararon con 10 mL de HNO_3 5% v/v.
3. La disolución obtenida fue evaporada lentamente a sequedad (60 °C) en la placa calefactora.
4. Finalmente, el residuo seco se disolvió con 2 mL de HNO_3 8M, para continuar con la preparación del cátodo para AMS, o bien en 10 mL de HNO_3 al 5% v/v para su análisis por ICP-SFMS.

Procedimiento 2

1. Las planchetas se sumergieron en sendos vasos de precipitados con 20 mL de HNO_3 2,5% v/v y HCl 2,5% v/v toda la noche.
2. Después, se extrajeron las planchetas y se lavaron con 10 mL de HNO_3 5% v/v.
3. La disolución obtenida fue evaporada lentamente a sequedad (60 °C) en la placa calefactora.
4. Finalmente, el residuo seco se disolvió con 2 mL de HNO_3 8M, para continuar con la preparación del cátodo para AMS, o bien en 10 mL de HNO_3 al 5% v/v para su análisis por ICP-SFMS.

Procedimiento 3

1. Las planchetas se sumergieron en sendos vasos de precipitados con 40 mL de una disolución ácida (HNO_3 2,5% v/v y HCl 2,5 % v/v), durante 1 h a 60 °C.
2. Después, se extrajeron las planchetas y se lavaron con 10 mL de HNO_3 5% v/v.
3. La disolución obtenida fue evaporada lentamente a sequedad (60 °C) en la placa calefactora.
4. Finalmente el residuo seco se disolvió con 10 mL de HNO_3 8M y se dividió en dos fracciones de 5 mL. Una fracción se utilizó en la preparación del cátodo para AMS, y la otra fracción para su análisis por ICP-SFMS.

3.7 Preparación de los cátodos de Pu para AMS

Los cátodos de Pu fueron preparados a partir de las disoluciones obtenidas después de la separación radioquímica o, en el caso de reevaluación de planchetas, a partir de los extractos de las planchetas previamente medidas por AS. En la Figura 3.11 se muestra un diagrama del procedimiento de preparación de los cátodos de Pu para su análisis mediante AMS. Los detalles del proceso se indican a continuación.

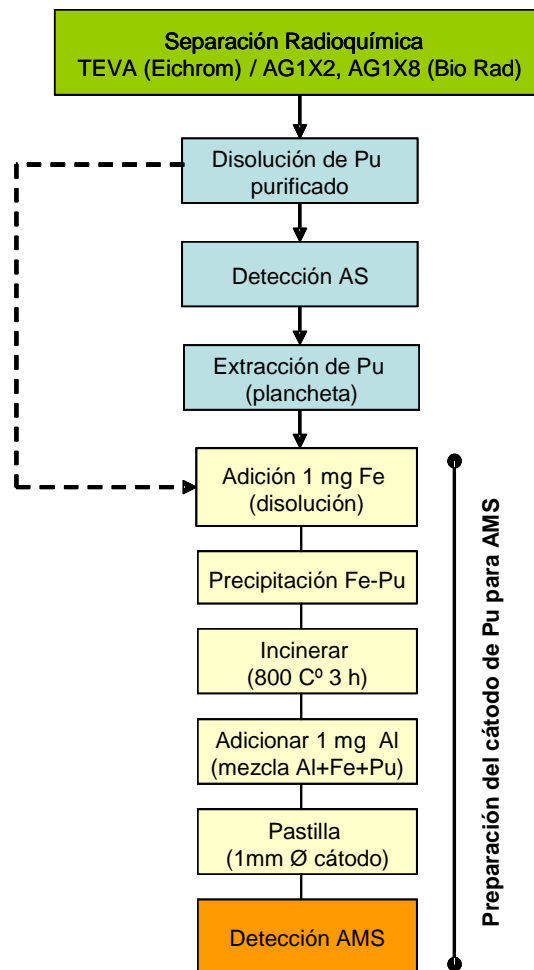


Figura 3.11 Esquema del procedimiento preparativo de los cátodos para análisis de Pu mediante AMS [141].

Proceso de preparación de los cátodos de Pu para análisis por AMS

1. La disolución de Pu obtenida en la separación radioquímica (o procedente del proceso de extracción de Pu de la plancheta) se transfirió a un tubo de plástico de polipropileno.

2. Se añadió 1 mg de Fe^{+3} (patrón de ICP-MS de 1000 mg L^{-1} de Fe) en disolución de HNO_3 al 5% v/v.
3. La disolución de Pu se evaporó a sequedad a 90 °C.
4. Se recuperó cuidadosamente el residuo seco, transfiriéndose éste a un crisol previamente etiquetado y tarado.
5. El crisol se introdujo en una mufla y se calcinó a 800 °C durante 3 h.
6. Se añadió 1 mg de polvo de Al de alta pureza y se mezcló cuidadosamente.
7. La mezcla de Al, Fe y Pu se depositó en el cátodo para proceder al prensado.
8. Con la ayuda de una prensa hidráulica, se preparó el cátodo de Pu para AMS, aplicándole una presión de 5 bar durante 5 seg.

3.8 Parámetros instrumentales en las medidas de Pu en orina

Espectrometría alfa (AS)

Calibración del espectrómetro alfa

Un radionucleido emisor alfa se caracteriza cualitativamente por su energía de emisión, a la vez que su concentración puede estimarse por la cantidad de partículas alfa emitidas por unidad de tiempo. El resultado final de la medida mediante espectrometría de un emisor de este tipo es la obtención de una curva o espectro, que representa el número de partículas detectadas en función de la energía de emisión. Se deduce por tanto, que para caracterizar el sistema y obtener información tanto cualitativa como cuantitativa del espectro alfa, es necesario realizar las correspondientes calibraciones en energía y en eficiencia, una vez prefijadas las condiciones adecuadas de funcionamiento del equipo de medida.

El sistema se calibró en energía utilizando una fuente radiactiva de referencia con la misma geometría que las muestras a analizar (planchetas y electrodeposición de las mismas dimensiones). La fuente utilizada en estas investigaciones (certificado MRC2008-013) está compuesta por una mezcla de los siguientes radionucleidos: ^{233}U , $^{239+240}\text{Pu}$ y ^{241}Am . En total, se calibraron seis detectores, con un número de replicas $n=10$ y un tiempo de recuento de

10 min. Un ejemplo de los resultados de estas calibraciones se muestra en la Figura 3.12.

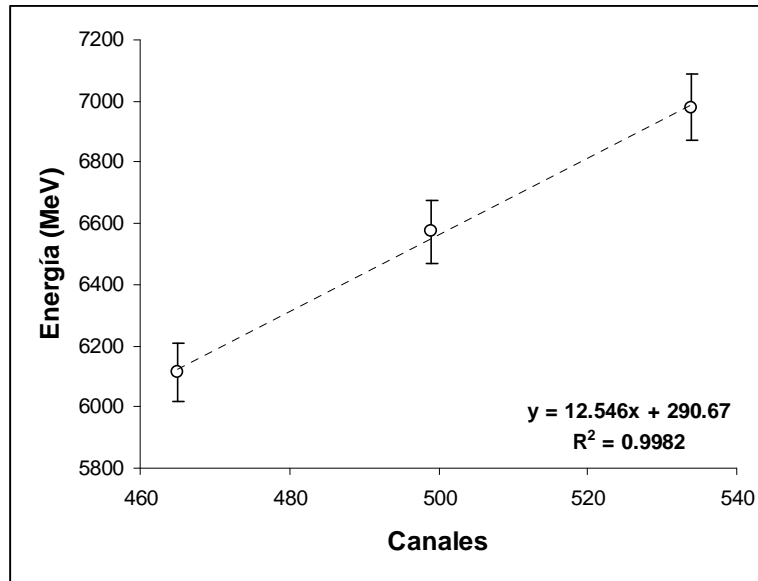


Figura 3.12 Ejemplo de calibración en energía de uno de los detectores del espectrómetro alfa empleado en estas investigaciones. Se utilizó la fuente radiactiva de referencia MRC2008-013, realizándose 10 repeticiones con un tiempo de recuento de 10 min.

Para la calibración en eficiencia de cada detector se empleó una muestra radiactiva de referencia (certificado MRC2009-005), que contiene ^{241}Am . En total, se calibraron los seis detectores anteriores, con un número de replicas $n = 10$ y un tiempo de recuento de 10 min. En la Tabla 3.4 se muestran los resultados de la eficiencia obtenidos para los seis detectores empleados durante los análisis.

Tabla 3.4 Eficiencia de los detectores utilizados para el análisis por AS

Detector	Eficiencia del detector
1A	0.3201 ± 0.01
1B	0.3540 ± 0.02
2A	0.3464 ± 0.01
2B	0.3543 ± 0.02
3A	0.3246 ± 0.02

3B 0.3354 ± 0.01

La eficiencia del detector se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\varepsilon = \frac{a/t}{A} \times 100 \quad (\text{ecuación 3.2})$$

Donde:

ε = eficiencia del detector (%).

a= área de pico (cuentas obtenidas en la integración del pico).

t= tiempo de recuento (s).

A= actividad de la muestra radiactiva de referencia (s^{-1}).

Los parámetros instrumentales fijados durante las medidas de Pu en muestras de orina y blancos (H_2O y orina) se indican en la Tabla 3.5.

Tabla 3.5 Parámetros instrumentales de AS

Parámetro	Valor
Tiempo de recuento (s)	360000
Tipo de detector	PIPS
Distancia entre el detector y la plancheta (mm)	3
Radionucleidos analizados	^{238}Pu $^{239+240}\text{Pu}$, ^{242}Pu

Cálculo del rendimiento radioquímico

El rendimiento radioquímico del proceso analítico corresponde a la proporción entre la actividad del patrón interno (en nuestro caso ^{242}Pu) medida por AS, una vez finalizada la separación radioquímica, y la que se añadió a la orina al inicio del análisis. La actividad del patrón interno (y de cualquier emisor alfa en general) medida por AS, se calcula mediante la expresión:

$$A_t = \frac{n_t}{\varepsilon} \quad (\text{ecuación 3.3})$$

Donde:

A_t = actividad del radioisótopo (Bq).

n_t = cuentas por segundo (cps) del radioisótopo detectadas.

ε = eficiencia del detector.

Y el rendimiento radioquímico se calcula mediante la expresión:

$$R = \frac{A_t}{A} \times 100 \quad (\text{ecuación 3.4})$$

Donde:

R= rendimiento radioquímico (%).

A_t = actividad del patrón interno (^{242}Pu) detectada por AS (Bq).

A= actividad del patrón interno (^{242}Pu) añadida inicialmente a la muestra de orina (Bq).

La actividad en la muestra debida a los radionucleidos de Pu ($^{239+240}\text{Pu}$ y ^{238}Pu) se obtiene aplicando la siguiente expresión:

$$A_m = A \frac{(n_m - n_{F1})}{(n_t - n_{F2})} \quad (\text{ecuación 3.5})$$

Donde:

A_m = actividad en la muestra (Bq)

A= actividad del patrón interno (^{242}Pu) añadida inicialmente a la muestra de orina (Bq).

n_m = cps del pico de Pu ($^{239+240}\text{Pu}$ y ^{238}Pu). Se obtiene sumando las cps de cada pico canal por canal (número de cuentas acumuladas en cada uno de ellos) y dividiendo por el tiempo de recuento en segundos.

n_t = cps del pico de ^{242}Pu .

n_{F1} = cps del fondo en la zona de Pu ($^{239+240}\text{Pu}$ y ^{238}Pu).

n_{F2} = cps del fondo en la zona del ^{242}Pu .

La incertidumbre asociada a la medida, según la publicación Indirect Methods for Measuring Radionuclides in the Human Body [158], basada en la norma ANSI N 13.30 [159], viene dada por la siguiente expresión:

$$\sigma = \frac{A}{(n_t - n_{F2})} \sqrt{\left[\frac{n_m}{t} + \frac{n_{F1}}{t} + \frac{(n_m - n_{F1})^2 n_t}{(n_t - n_{F2})^2 t} + \frac{(n_m - n_{F1})^2 n_{F2}}{(n_t - n_{F2})^2 t} \right]} \quad (\text{ecuación 3.6})$$

Donde:

A= actividad del patrón interno (^{242}Pu) añadida inicialmente a la muestra de orina (Bq).

n_m = cps del pico de Pu ($^{239+240}\text{Pu}$ y ^{238}Pu).

n_t = cps del pico de ^{242}Pu .

n_{F1} = cps del fondo en la zona de Pu ($^{239+240}\text{Pu}$ y ^{238}Pu).

n_{F2} = cps del fondo en la zona del ^{242}Pu .

t = tiempo de recuento (s).

Los resultados finales de la actividad de cada radionucleido de Pu en la muestra se expresan en Bq/muestra.

Cálculo del LOD y AMD

El LOD se define como la menor cantidad de un analito cuya señal puede ser distinguida de la del ruido. Existen tres factores que influyen en el LOD instrumental: los efectos del fondo, la sensibilidad del instrumento al analito y la relación señal-ruido. Durante estas investigaciones, el LOD de ^{239}Pu y ^{242}Pu fue obtenido midiendo 50 muestras orina blanco en muestras y el calculado fue mediante el criterio de Currie [161], que emplea la siguiente expresión:

$$\text{LOD} = \frac{3 + 4,65 \times \sigma_B}{t} \quad (\text{ecuación 3.7})$$

Donde:

LOD= límite de detección (Bq).

σ_B = desviación estándar de los blancos.

t= tiempo de recuento.

La AMD se puede definir como la actividad mínima de una muestra radiactiva que puede ser cuantificada experimentalmente con un nivel de incertidumbre determinado. El AMD de ^{239}Pu y ^{242}Pu fueron obtenidos sobre 50

muestras de orina de 500 mL sin trazar, se empleó el método de evaporación seguido de la digestión ácida, separación radioquímica y electrodeposición. Existen diversas fórmulas que permiten hacer el cálculo de la AMD, una de las más empleadas es la recomendada en la norma ANSI N 13.30 [160], cuya expresión es la siguiente:

$$AMD = \frac{3 + 4,65\sqrt{C_{F1}}}{t \times R \times \varepsilon} \quad (\text{ecuación 3.8})$$

Donde:

AMD= Actividad Mínima Detectable (Bq).

C_{F1} = cuentas de fondo totales para la zona del pico del Pu (^{242}Pu , $^{239+240}\text{Pu}$ y ^{238}Pu).

t= tiempo de recuento¹⁴ (s).

R= rendimiento radioquímico (%).

ε = Eficiencia del detector.

En estas investigaciones, la AMD de ^{239}Pu y ^{242}Pu en muestras de orina fue normalizada al volumen total de muestra, y se calculó mediante la siguiente expresión:

$$AMD = \frac{3 + 4,65\sqrt{\sigma_B}}{t} \times \frac{1}{\varepsilon} \times \frac{1}{R} \times \frac{1}{V} \quad (\text{ecuación 3.9})$$

Donde:

AMD= Actividad Mínima Detectable (Bq).

σ_B = desviación estándar del blanco (cps).

t= tiempo de recuento (s).

ε = Eficiencia del detector.

R= rendimiento radioquímico (%).

V= volumen de orina analizado (mL).

Espectrometría de masas de alta resolución con fuente de plasma acoplada inductivamente (ICP-SFMS)

Sintonización y calibración de sistema de medida

¹⁴ El tiempo de recuento para las muestras y el fondo ha de ser el mismo.

Para la sintonización del instrumento se empleó una disolución patrón multielemental certificada o *tune* (Merck multi-elementos XXIII). La calibración del espectro de masas (m/z) se realizó en dos etapas:

- 1) Monitorización y ajuste de la señal del instrumento para las relaciones m/z de ^{115}In , ^{238}U y UO . En esta etapa se ajustan diversos parámetros instrumentales para obtener una intensidad de señal del orden de 1×10^6 cps para el ^{115}In , 2×10^6 cps para ^{238}U y todo ello con una producción de óxidos de uranio en el plasma menor del 10%.
- 2) Monitorizando la señal del instrumento para las relaciones m/z de ^7Li , ^{115}In y ^{238}U en baja, media y alta resolución. Durante la sintonización del equipo es importante resolver las interferencias $^{56}\text{Fe-ArO}$ en el modo de media resolución, y $^{39}\text{K-ArH}$ en el modo de alta resolución. La comprobación de la sintonización y calibración de las masas se lleva a cabo ejecutando una secuencia de estabilidad, la cual proporciona un promedio, en cps, de las medidas durante un total de diez medidas. La sumatoria de todas las desviaciones estándar relativas (RSD) debe ser inferior al 2%. Por el contrario, si no se obtiene este valor es necesario volver a ajustar las masas de ^7Li , ^{115}In , ^{238}U en baja, media y alta resolución.

Optimización del método para medir Pu

Para la optimización del método de cuantificación de Pu mediante ICP-SFMS, se comenzó con la edición de una secuencia específica para los radionucleidos de interés. A continuación, se analizó en el ICP-SFMS una disolución con concentraciones conocidas de esos radionucleidos y se monitorizaron sus m/z . Posteriormente, se ajustó el rango de masas para evitar las interferencias que pudieran ser originadas por el plasma. Como resultado se obtuvieron las condiciones óptimas del método para determinar los isótopos de Pu. Las masas que fueron sintonizadas durante este trabajo corresponden a ^{237}Np , ^{238}U , ^{239}Pu y ^{242}Pu . El ^{237}Np se usó como estándar externo durante las medidas de Pu por ICP-SFMS.

En este trabajo se emplearon tres métodos que fueron optimizados para determinar ^{239}Pu y ^{242}Pu , los cuales dependen del tratamiento previo al que fueron sometidas las muestras.

El primer método optimizado, se empleó para el análisis directo de Pu en fracciones de muestras de orina previamente digerida por horno de microondas (en estas muestras no se realizó la separación radioquímica). Como patrón externo se utilizaron ^{115}In o ^{237}Np . En la Tabla 3.6 se muestran las condiciones operacionales de este método.

Tabla 3.6 Condiciones operacionales optimizadas para análisis de Pu en orina mediante ICP-SFMS, sin separación radioquímica.

Solution uptake rate	0.5 mL min ⁻¹
RF power	1375 W
Cool gas flow rate	16.51 L min ⁻¹
Auxiliary gas flow rate	0.74 L min ⁻¹
Nebulizer gas flow rate	1.194 L min ⁻¹
Ion extraction lens potential	-2000 V
Mass resolution (m/Δm)	300
Isotope	^{239}Pu ; ^{242}Pu , ^{115}In , ^{237}Np
Samples per peak	100
Setting time	10 ms
Sample time	10 ms
Points per width	10
Peak schiff	1.0
Mass window	20%
Integration window	80%
Scan type	E-Scan
Detection mode	Triple (ion counting, analogue and Faraday)
Total analysis time per sample	3 min
Sampler/skimmer cone	Nickel
Spray chamber	Twister with Helix, 50 mL cyclonic, Borosilicate glass
Nebulizer	MicroMist U-series nebulizer 0.1 mL min ⁻¹

El segundo método optimizado para medir radionucleidos de Pu por ICP-SFMS en muestras de orina humana, se aplicó en las siguientes situaciones:

- a) Muestras de orina digeridas en horno de microondas y posterior separación radioquímica para purificar el Pu.
- b) En la reevaluación de las planchetas, que fueron previamente medidas por AS, para la cuantificación del contenido de Pu.

Durante el análisis por ICP-SFMS de las muestras anteriormente citadas, se utilizó el ^{237}Np como patrón externo. Las condiciones experimentales optimizadas del ICP-SFMS fueron idénticas a las indicadas en la Tabla 2.5, salvo en el apartado isótopos, donde se analizaron ^{239}Pu , ^{242}Pu y ^{237}Np .

Finalmente, el tercer método para medir radionucleidos de Pu en muestras de orina humana, se aplicó en la cuantificación y reevaluación del contenido de Pu en planchetas previamente medidas por AS. Las masas que fueron sintonizadas en el método corresponden al ^{238}U , ^{239}Pu y ^{242}Pu . Las condiciones para la configuración del método se muestran en la Tabla 3.7. En todas estas se usó como patrón externo el ^{237}Np .

Tabla 3.7 Condiciones operacionales optimizadas de Aridus-HR-ICP-MS

Solution uptake rate	0.5 mL min ⁻¹
RF power	1375 W
Cool gas flow rate	16.51 L min ⁻¹
Auxiliary gas flow rate	0.74 L min ⁻¹
Nebulizer gas flow rate	1.194 L min ⁻¹
Ion extraction lens potential	-2000 V
Mass resolution (m/Δm)	300
Isotope	²³⁹ Pu, ²⁴² Pu, ²³⁷ Np, ²³⁸ U
Samples per peak	100
Setting time	10 ms
Sample time	10 ms
Points per width	10
Peak schiff	1.0
Mass window	20 %
Integration window	80 %
Scan type	E-Scan
Detection mode	Triple (ion counting, analogue and Faraday)
Total analysis time per sample	3 min
Sampler/skimmer cone	Nickel
Nebulizer	Microflow nebulizer PFA-100
Desolvator Aridus	Sweep gas (Ar): 4.57 mL min ⁻¹ Nitrogen flow: 6 mL min ⁻¹

Cálculo del LOD, LQ, AMD y concentración de actínidos en orina

En todos los casos para determinar el fondo, LOD y AMD de ²³⁸U, ²³⁹Pu y ²⁴²Pu en muestras de orina humana, se uso 10 réplicas para obtener un limite de confianza del 95 %. Los LOD en blancos de orina fueron calculados mediante la siguiente expresión:

$$LOD = \frac{3 \times \sigma_B \times S}{I - B} \times V \quad (\text{ecuación 3.10})$$

Donde:

S= concentración de estándar (fg mL⁻¹).

σ_B= promedio de las desviación estándar del blanco (cps).

B= promedio de las intensidades del blanco (cps).

I= promedio de las intensidad de estándar (cps).

V= volumen de orina analizado (mL).

El LQ define habitualmente como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada con fiabilidad por un método analítico determinado. LQ fue calculado considerando por la siguiente expresión:

$$L_Q = 1 \times \sigma_B \quad (\text{ecuación 3.11})$$

Como se aprecia de la ecuación anterior, LQ tiene unidades de concentración. σ_B es la desviación estándar de los blancos (cps, convertidos en fg mL⁻¹ usando la ecuación lineal de la calibración). La conversión de LQ a AMD se llevó a cabo considerando el rendimiento radioquímico (R) del proceso expresado en %, la expresión sería la siguiente:

$$A_M = L_Q \times \frac{1}{R} \quad (\text{ecuación 3.12})$$

La concentración de ²³⁹Pu y ²⁴²Pu contenida en las muestras, previamente disueltas en 10 mL de HNO₃ al 5% v/v, fue determinada mediante calibración externa (con patrones de Pu en la misma matriz que las muestras y por regresión lineal de los datos de la calibración).

Espectrometría de masas con aceleradores (AMS)

Sintonización del sistema de medida

Las medidas de radionucleidos de Pu por AMS se caracteriza por su alta sensibilidad en la determinación de relaciones isotópicas (²³⁹Pu/²⁴²Pu). El radionucleido empleado como patrón interno es el ²⁴²Pu, al igual que en la técnica de AS. La concentración de ²⁴²Pu debe ser de 1 pg por muestra, para producir corrientes cuantificables en una cámara de Faraday. La puesta a punto de un sistema de AMS para la medida de radionucleido de Pu comienza normalmente con la determinación de los campos eléctricos y magnéticos que inyectarían un haz de ²³²Th³⁺ en el detector. Al ser factible la preparación de cátodos con cantidades macroscópicas de este radionucleido, la sintonización de los diferentes filtros cinemáticos y lentes electrostáticas puede llevarse a cabo ordenadamente mediante el empleo de las cámaras de Faraday situadas en las imágenes de los dispositivos del sistema. El proceso finaliza cuando, monitorizando la corriente de ²³²Th³⁺ en la cámara de Faraday más cercana al

detector, los campos llegan a reproducirse tras hacer varias veces ajustes finos de los parámetros.

Una vez sintonizado el sistema para el ^{232}Th , se pueden extrapolar los valores de los campos que llevan a la inyección del ^{239}Pu y ^{242}Pu , en el detector. A continuación, se ajusta el voltaje de la cámara del sector magnético de baja energía (Bouncer); el acelerador (voltaje), y el campo del deflector electrostático (ESA). La idea es que todas las masas tengan la misma rigidez magnética en las zonas de baja y alta energía, la del ^{232}Th , proceso que, en el caso del sector magnético a la salida del acelerador, que no tiene un Bouncer acoplado, pasa por la modificación de la energía de las partículas a través del voltaje de aceleración. Esta diferencia en energías debe compensarse finalmente a través del deflector electrostático, para que los iones sean conducidos hasta el detector. Se recomienda realizar barridos finos de los tres campos hasta conseguir máximos en las tasas de recuento en el detector para valores reproducibles. La sintonización del resto de componentes electrostáticos (lentes) la podemos suponer análoga en todos los casos a la del ^{232}Th , pues prácticamente todas las masas tienen la misma rigidez electrostática. Una vez completada esta etapa, el sistema estará preparado para realizar medidas de muestras reales de forma sistemática.

Un resumen de la sintonización del sistema AMS compacto de 1MV para medir los radionucleidos ^{239}Pu y ^{242}Pu en muestras de orina humana previa sintonización del sistema del radionucleido ^{232}Th se muestra a continuación:

1. *Voltaje de la cámara del sector magnético de baja energía:* Los voltajes necesarios para la inyección de las masas 255 u ($^{239}\text{Pu}^{16}\text{O}^-$), 256 u ($^{240}\text{Pu}^{16}\text{O}^-$) y 258 u ($^{242}\text{Pu}^{16}\text{O}^-$) en el acelerador, se calculan imponiéndoles a todas estas masas la rigidez magnética del $^{232}\text{Th}^{16}\text{O}^-$, teniendo presente que la energía de extracción de la fuente de iones es de 35 keV, y que el $^{232}\text{Th}^{16}\text{O}^-$ se introduce en el acelerador en ausencia de pulso. Los voltajes necesarios en este caso se estiman imponiéndole a todas las partículas la rigidez magnética límite.
2. *Voltaje de aceleración:* En ausencia de un sistema de pulsado rápido acoplado al sector magnético de alta energía, la única forma de

conferirle a todas las masas la rigidez magnética del $^{232}\text{Th}^{3+}$ es modificando ligeramente su energía a través del voltaje del terminal de aceleración. Si buscamos para el ^{242}Pu un voltaje de aceleración de 680 kV, para el cual su rigidez magnética ($72,9 \text{ MeV}\cdot\text{u}/q^2$) estaría próxima al valor límite ($73,92 \text{ MeV}\cdot\text{u}/q^2$). Desde un principio, se sintonizaría entonces el $^{232}\text{Th}^{3+}$ con un voltaje de aceleración de 710 kV aproximadamente.

3. *Campo del deflector electrostático*: Finalmente, el campo del último filtro cinemático debe ser modificado para compensar las diferencias energéticas introducidas en el paso anterior y conducir a todos los iones hasta el detector. A partir del voltaje aplicado a los electrodos para la inyección del $^{232}\text{Th}^{3+}$ se pueden estimar fácilmente los voltajes necesarios para el resto de masas aplicando una regla de tres, teniendo presente que deben ser proporcionales a la rigidez electrostática de los cationes.

Cálculo del LOD, AMD y concentración de actínidos en orina

Las condiciones usadas en la determinación de ^{239}Pu y ^{242}Pu se muestran en la Tabla 3.8 En una medida real, el tiempo de pulsado de cada masa asciende a varios segundos. Normalmente, se le dedican 5 s a la medida del ^{242}Pu , 30 s y 20 s al ^{239}Pu , completándose un “ciclo”. Esta secuencia se repite cinco veces, concluyéndose lo que se denomina “paso”. La relación isotópica $^{239}\text{Pu}/^{242}\text{Pu}$ se obtienen como un promedio global del número total de cuentas acumuladas para cada isótopo. El análisis de una muestra problema finaliza tras completarse 7 pasos, que se alternan con la medida de otras muestras problema, muestras de control, estándares, y blancos. Las relaciones isotópicas finales para cada muestra problema, se obtienen como un promedio pesado de los resultados de cada paso, tomándose como factor de ponderación el producto de las cuentas acumuladas de ^{242}Pu a lo largo del paso y el tiempo dedicado a la medida del isótopo problema. De esta forma, se favorecen aquellos pasos en los que el tiempo de medida ha sido mayor en condiciones de máxima corriente.

Tabla 3.8 Condiciones experimentales para determinar Pu por AMS.

Extraction Energy (PuO ⁺)	35 keV
Terminal Voltage	680 kV
Charge state after the stripping process	3 ⁺
Final Energy	2.7 MeV
Optimum stripper gas thickness	0.1 µg/cm ²
Maximum transmission through the accelerator (UO→U ³⁺)	11%
Beam-size at the LEM image position/ Optical transmission	~ 4 mm/ ~80%
Beam size at the HEM and ESA image positions/ Optical transmission	~ 3 mm/ ~100%
Pulsing Times	10 s for ²³⁹ Pu 5 s for ²⁴² Pu
Time per analysis	15 min
²³⁹ Pu/ ²³⁸ U mass suppression factor	10 ⁻⁹

Los LOD de ²³⁹Pu y ²⁴²Pu fueron calculados sobre muestras de orina humana sin trazar (blancos), siguiendo el criterio estadístico de Currie [161]. El fondo residual se estimó con tres muestras blanco, a las que se añadieron cantidades conocidas de ²³⁹Pu y ²⁴²Pu durante las medidas de Pu. En promedio, una muestra que contiene 1 pg de Pu produce alrededor de 100 ± 10 cps en el detector.

El LOD de ²³⁹Pu y ²⁴²Pu en muestras de orina humana se transforma en la AMD considerando el rendimiento radioquímico de la purificación, según lo determinado por espectrometría alfa (R), y el tiempo de medición (t= 20 min), de acuerdo con la siguiente expresión:

$$AMD = \frac{3 + 4,65 \times \sigma_B}{t} \times \frac{1 \text{ pg (Pu)}}{100 \text{ cps}} \times \frac{100}{R} \quad (\text{ecuación 3.13})$$

PARTE B. RESULTADOS

3.9 Medida de ^{239}Pu a niveles ultratrazas en muestras de orina humana usando un sistema AMS compacto de 1 MV

3.9.1 Introducción

El Establecimiento de protocolos de emergencia para la determinación de Pu a niveles traza o ultratrazas ante cualquier accidente nuclear es una prioridad dentro de las varias instituciones nacionales e internacionales que regulan las actividades de protección radiológica, en particular respecto del desarrollo de la industria nuclear. Los varios accidentes nucleares ocurridos hasta la fecha (10 de octubre de 1957, Sellafield, Reino Unido; 17 de enero de 1966, Palomares, España; 26 de abril de 1986, Chernóbil, Ucrania; Marzo de 1997 y Septiembre de 1999, Tokaimura, Japón; etc.) han hecho reflexionar sobre la importancia del estudio y control continuo de las zonas y del personal expuesto a radiaciones ionizantes y a riesgos de contaminación por emisores alfa, particularmente Pu.

En la actualidad, los laboratorios de bioeliminación son los responsables del análisis de muestras biológicas para el control dosimétrico del personal expuesto (dosimetría interna). Por ello, el desarrollo de nuevos métodos que mejoren la determinación de actínidos en excretas es una necesidad constante en este campo. Los avances tecnológicos en instrumentación analítica, principalmente en el área de MS han abierto una vía de progreso en esos desarrollos. De ahí, que se estableciera una colaboración con el CNA y CIEMAT para desarrollar metodologías de análisis de Pu en muestras de orina por medio de AMS. El propósito de esta colaboración fue, por tanto, demostrar la viabilidad del uso del sistema de AMS compacto de 1MV con fines dosimétricos en el análisis de rutina de Pu en muestras de orina humana del personal profesionalmente expuesto.

El objetivo de este trabajo ha sido, por tanto, desarrollar un método analítico que permita determinar niveles ultra-traza de ^{239}Pu en orina por AMS, mejorando las capacidades de los métodos clásicos (AMD para AS ~ 100 fg de ^{239}Pu).

En el desarrollo del método se realizaron dos experimentos, ambos basados en la determinación de Pu en muestras de orina de 24 h. La muestra fue acidulada con HNO₃ concentrado mediante agitación y trazada con concentraciones conocidas de ²³⁹Pu y ²⁴²Pu. La muestra fue dividida en fracciones (volumen entre 10 y 600 mL) las cuales fueron evaporadas en placa calefactora, seguido de una digestión ácida con HNO₃ y H₂O₂ en un digestor de microondas. La purificación del Pu (separación radioquímica), se efectuó empleando resina de intercambio iónico AG1X2. La preparación del cátodo de Pu para el análisis con AMS fue realizada en el CNA, según se indica en el artículo.

3.9.2 Resultados

Los resultados obtenidos se pueden resumir en dos partes:

- Se ha demostrado que el sistema compacto AMS de 1 MV es una herramienta altamente sensible para cuantificar ²³⁹Pu en orina (al menos 30±5 µBq, ~13 fg de ²³⁹Pu).
- Los procedimientos desarrollados para el tratamiento de las muestras (evaporación y digestión ácida) han permitido optimizar tanto el volumen necesario de orina como el tiempo total del análisis (10 horas frente a 1 semana).

La aplicación del sistema AMS compacto de 1 MV ha permitido desarrollar una técnica analítica para la cuantificación de ²³⁹Pu a niveles ultratraza en muestras de orina, más rápida y sensible que los métodos clásicos basados en AS. La gran sensibilidad del AMS ha permitido reducir notablemente tanto el volumen de muestra necesario como el tiempo de análisis con respecto a los métodos clásicos basados en AS reduciendo, asimismo, los niveles de actividad detectable. Se ha demostrado, por tanto, que esta instrumentación constituye una herramienta tremendamente eficaz para su empleo en bioensayos para dosimetría interna. La sensibilidad del procedimiento propuesto en este trabajo abre nuevas e interesantes posibilidades como, por ejemplo, el estudio del modelo diario de excreción con objeto de establecer el volumen de orina óptimo requerido para bioensayos in vitro. En este sentido, sería conveniente si la muestra se limitase a la primera

micción de la mañana (≤ 500 mL), puesto que así la muestra se tomaría en el domicilio del trabajador, minimizando el riesgo de contaminación externa con respecto a las muestras de 24 h que, al menos parcialmente, se recogen en el entorno laboral.

Finalmente, recalcar que el método analítico propuesto sería adecuado para su utilización tanto en situaciones de control dosimétrico ordinario del personal profesionalmente expuesto, como para el control de la población en situaciones de emergencia radiológica. Con mínimas modificaciones, el procedimiento también sería valioso en otros campos de aplicación como, por ejemplo, medio ambiente (contaminación de suelos, aguas, vegetación, alimentos, etc).

Este trabajo se ha publicado en la revista Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, bajo el título: "Measurement of ^{239}Pu in urine samples at ultra-trace levels using a 1 MV compact AMS system": http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6TJN-4XDD015-W&_user=2412114&_coverDate=04%2F30%2F2010&_alid=1633994015&_rdoc=2&_fmt=high&_orig=search&_origin=search&_zone=rslt_list_item&_cdi=5315&_sort=r&_st=13&_docanchor=&_view=c&_ct=2&_acct=C000057208&_version=1&_urlVersion=0&_userid=2412114&_md5=ba77bd6fda3f3fa2046a994c7e286d86&_searchtype=a

Asimismo, fue presentado en la 11th International Conference on Accelerator Mass Spectrometry (AMS-11), celebrado en Roma (Italia) en septiembre de 2008.

3.10 Un método altamente sensible para la reevaluación y cuantificación de ^{239}Pu en muestras de orina basado en Espectrometría de Masas con Aceleradores de 1 MV

3.10.1 Introducción

La AS es sin duda una técnica muy valiosa para el análisis cualitativo de emisores alfa (Pu, Am, U, Th) en muestras biológicas (orina o heces). Sin embargo, existen varios factores que afectan la medida Pu en AS, tales como la eficiencia del detector, el rendimiento radioquímico, el fondo y el tiempo de recuento. Estos factores contribuyen a la incertidumbre asociada en la medida. Por ello, la incertidumbre en el análisis de Pu resulta especialmente importante cuando la actividad de la muestra problema se halla en el rango de la AMD para esta técnica experimental. Para solucionar este tipo de problemas a los que se enfrenta la dosimetría se propone la reevaluación de las planchetas medida por AS, mediante las técnicas de AMS.

El objetivo de este trabajo ha sido doble. Por una parte, se ha puesto a punto un método que permite reevaluar planchetas cuyo contenido de Pu se encuentra en concentraciones inferiores a la AMD por AS y, por otra, se ha logrado mejorar el valor del LOD de ^{239}Pu obtenido en un estudio anterior (~13 fg).

Para desarrollar este método, se recogieron muestras de orina de 24 h, las cuales fueron aciduladas con HNO_3 , homogeneizadas mediante agitación y divididas en fracciones de 500 mL. Las muestras fueron marcadas individualmente con concentraciones conocidas de ^{239}Pu (rango de 2 a 120 fg) y con ^{242}Pu como patrón interno (14 pg). Para la determinación de LOD y AMD de ^{239}Pu y ^{242}Pu se emplearon muestras de orina sin trazar (blanco). Para el tratamiento de la muestra hasta la purificación de Pu se empleó la metodología aplicada en el trabajo anterior. La fracción de Pu purificado se evaporó a sequedad, se sometió al proceso de electrodeposición ya descrito y se cuantificó mediante AS la actividad ^{239}Pu y ^{242}Pu contenida en la plancheta. Una vez que todas las planchetas fueron analizadas por AS, se procedió a la extracción del Pu para su reevaluación por AMS. Para optimizar el proceso de extracción, se emplearon dos procedimientos. En el primero de ellos, las

planchetas fueron sumergidas durante toda la noche en 20 mL de disolución ácida (HNO_3 al 2,5% v/v y HCl al 2,5% v/v) y posteriormente, fueron aclaradas con HNO_3 al 2,5%. Es importante mencionar que, en este proceso, los extractos obtenidos contenían una concentración de Fe algo más elevada de lo deseable (entre 6 y 15 mg) para el análisis por AMS, provocando un aumento del fondo instrumental y, por tanto, afectando al valor del LOD del ^{239}Pu . El segundo procedimiento fue una variante del anterior, pero utilizando únicamente HNO_3 al 5% v/v, sin HCl . Con este procedimiento se evita la remoción agresiva de Fe de la plancheta, lo que permitió obtener mejores valores del LOD de ^{239}Pu que los reportados en el trabajo anterior.

Finalmente, todos los extractos obtenidos, independientemente del método de extracción, fueron evaporados a sequedad y sometidos al proceso de preparación del cátodo para su análisis por AMS.

3.10.2 Resultados

Los resultados más relevantes del método analítico propuesto se pueden resumir de la siguiente manera:

- El promedio del rendimiento radioquímico, determinado por AS, fue alrededor del 82 ± 5 %.
- Los LOD obtenidos con AS para ^{239}Pu y ^{242}Pu fueron de $19,4 \pm 2,2$ fg y $387,6 \pm 81,2$ fg, respectivamente, y la AMD (considerando el volumen de muestra, la eficiencia del detector y el rendimiento radioquímico) fue de $50,9 \pm 5,6$ fg para ^{239}Pu , y $918,1 \pm 127,8$ fg para ^{242}Pu .
- Los LOD obtenidos con AMS para ^{239}Pu y ^{242}Pu fueron de $0,20 \pm 0,08$ fg y $0,83 \pm 0,033$ fg, respectivamente, y la AMD (considerando el rendimiento radioquímico y que, en promedio, un cátodo conteniendo 1 pg de Pu por mg de óxido de hierro produce 100 ± 10 cps en el detector) fue de $0,44 \pm 0,16$ fg para ^{239}Pu y $1,76 \pm 0,66$ fg para ^{242}Pu .
- La muestra de orina que fue trazada con 4,9 fg de ^{239}Pu , se cuantificó sin ningún problema.

El método desarrollado con AMS es extremadamente sensible y robusto para la medida de Pu, lo que hace posible manejar menores volúmenes de orina y, en consecuencia, reducir significativamente tanto el tiempo de

preparación de la muestra como el análisis del contenido de Pu. Además, el método aquí propuesto abre la posibilidad de reevaluar planchetas en aquellas situaciones en las que no es posible su cuantificación por los métodos convencionales basados en la AS, Es esta una aplicación novedosa y de gran interés para su aplicación en la cuantificación de Pu para la estimación de dosis incorporada en humanos.

Finalmente, es importante mencionar que este mismo experimento con resina AG1X2 fue realizado en paralelo con resina TEVA (Eichrom Industries, Inc), siguiendo la misma metodología para la preparación de la muestra. Los resultados obtenidos en la recuperación de Pu fueron inferiores al 50% y los valores de LOD obtenidos por AMS fueron aproximadamente de 53 fg de ^{239}Pu .

Este trabajo se ha publicado en la revista Journal of Analytical Atomic Spectrometry, bajo el título: "A highly sensitive method for the reassessment and quantification of ^{239}Pu in urine samples based on a 1 MV Accelerator Mass Spectrometry system".

<http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2010/JA/c002420a>

Asimismo fue presentado en el XVII Congreso de las sociedades españolas de Física Médica (SEFM) y de XII Protección Radiológica (SEPR), celebrado en Alicante (España) en junio de 2009.

3.11 Comparación de los métodos y la aplicación de la espectrometría alfa y de técnicas de espectrometría de masas para ^{239}Pu en muestras biológicas

3.11.1 Introducción

El presente trabajo tuvo como objetivo la comparación de métodos usados en la determinación de Pu en muestras de orina, en función del volumen de muestra (orina de la mañana), del método empleado durante la preparación de la muestra (evaporación/coprecipitación), del tipo de resina usada en la separación radioquímica (AG1X2/AG1X8) y de la técnica utilizada para las medidas de Pu (AS, ICP-SFMS y AMS). El contenido de Pu en todas las muestras fue determinado por AS y, posteriormente, las planchetas fueron reevaluadas utilizando ICP-SFMS y AMS.

Las muestras empleadas en el estudio, que correspondieron a la primera micción de la mañana, fueron aciduladas con HNO_3 y homogeneizadas mediante agitación en sendos vasos de precipitados. El volumen promedio fue de 370 ± 52 mL ($n=12$). Todas las muestras fueron marcadas por separado con idénticas concentraciones de ^{239}Pu (0,51 pg) y ^{242}Pu como patrón interno (9,96 pg). A continuación, las muestras fueron divididas en dos grupos iguales ($n=6$). En un grupo se empleó el proceso de evaporación y en el otro el proceso de coprecipitación ya descritos anteriormente. A su vez, las muestras de cada grupo fueron divididas en dos subgrupos ($n=3$) para su purificación con resina de intercambio iónico BioRad AG1X2 o AG1X8. Los procesos de purificación de Pu, electrodeposición y análisis por AS utilizados han sido ya descritos en esta Tesis Doctoral. Para la reevaluación del Pu electrodepositado, cada plancheta fue sumergida en sendos vasos de precipitados conteniendo 40 mL de disolución ácida (HNO_3 al 2,5% v/v y HCl al 2,5% v/v) a 60 °C durante 60 min. Posteriormente, las planchetas fueron aclaradas con HNO_3 al 2,5% y preparadas para su análisis bien por ICP-SFMS o bien por AMS.

3.11.2 Resultados

Los resultados obtenidos en este trabajo se pueden resumir de la siguiente manera:

- Tanto el proceso de coprecipitación como el de evaporación son adecuados para el tratamiento de la muestra de orina previo a la purificación. Sin embargo, la evaporación es notablemente más rápida que la coprecipitación.
- La utilización de la resina AG1X2 o AG1X8 no reveló ninguna diferencia significativa en el rendimiento radioquímico de la purificación de Pu.
- La purificación de Pu con la resina AG1X8 requirió 6 horas, el doble de tiempo que cuando se utiliza la resina AG1X2.
- El radionucleido ^{237}Np fue utilizado como estándar externo para las medidas de ICP-SFMS, mostrando una excelente respuesta durante las medidas de ^{239}Pu y ^{242}Pu . Su empleo conlleva la ventaja de que, al encontrarse su masa cercana a las de los analitos de interés, el análisis se realiza sin necesidad de desplazar el imán, como ocurriría en el caso del ^{115}In .
- Los LOD obtenidos con ICP-SFMS para ^{239}Pu y ^{242}Pu fueron de $4,87 \pm 0,09$ fg y $6,89 \pm 0,34$ fg, respectivamente, y la AMD fue de $23,43 \pm 0,94$ fg para ^{239}Pu , y $100,43 \pm 7,29$ fg para ^{242}Pu .
- La técnica de ICP-SFMS permite cuantificar el contenido de Pu extraído de la plancheta. Se ha observado experimentalmente que la recuperación del Pu contenido en la plancheta fue del 90% aproximadamente.

Los nuevos métodos analíticos desarrollados en este trabajo, basados en técnicas de MS para determinar diferentes isótopos de Pu, son adecuados para el seguimiento y control dosimétrico del personal profesionalmente expuesto a las radiaciones ionizantes. Las técnicas analíticas de ICP-SFMS y AMS han demostrado su aptitud para este tipo de controles, exhibiendo una excelente sensibilidad en el análisis de radionucleidos de Pu y un incremento notable de la productividad en el análisis comparado con AS. Se abre así la posibilidad de dar soporte viable al Servicio de Dosimetría Interna para el análisis de rutina en aquellos casos donde la aplicación de técnicas

radiométricas fuese insuficiente para la determinación de radionucleidos de vida larga en muestras de orina.

Este trabajo se ha publicado en la revista Journal of Analytical Atomic Spectrometry bajo el título: "Comparison of methods and application of alpha spectrometry and mass spectrometry techniques for ^{239}Pu in biological samples". <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2011/JA/C0JA00093K>.

3.12 Reevaluación de ^{239}Pu en planchetas procedentes de muestras de orina humana a niveles ultra-traza usando Aridus-HR-ICP-MS y AMS

3.12.1 Introducción

La determinación de radionucleidos de Pu a niveles de concentración del orden de fg en muestras de orina del personal expuesto a la radiaciones ionizantes representa cierta dificultad en la preparación de la muestra cuando se emplea todo el contenido excretado de orina de 24h (1725 ± 114 mL). Por ello, el objetivo de este trabajo fue desarrollar un método analítico para medir radionucleidos de Pu en orina de 24 h a niveles de concentración de pocos fg. Para ello, fue diseñado un experimento donde la concentración del analito adicionada a las muestras de orina fuera inferior a AMD por AS. Las muestra fueron trazadas en un rango de 8 a 40 fg de ^{239}Pu , valores que son inferiores a la AMD de AS, y con 8,4 pg de ^{242}Pu (patrón interno). La preparación de la muestra se llevó a cabo por coprecipitación, seguido de una digestión ácida. La purificación de Pu se realizó con la resina de intercambio iónico BioRad AG 1X2. Todas las muestras se electrodepositaron y se midieron por AS para determinar el rendimiento del proceso. La recuperación promedio de Pu fue del $80 \pm 6\%$. Posteriormente, las planchetas fueron sometidas a extracción ácida utilizando el método descrito en el trabajo anterior. Concluida la extracción, los residuos secos de los extractos se aforaron a 10 mL con HNO_3 5% v/v y se separaron en 2 fracciones: una para su análisis por Aridus-ICP-SFMS, y la otra por AMS.

3.12.2 Resultados

Los resultados obtenidos en este trabajo se resumen a continuación:

- Una vez más, queda demostrada la aptitud de ambas técnicas instrumentales para la determinación de ^{239}Pu en aquellas situaciones en las que la concentración del analito se encuentra por debajo de la AMD de la técnica de AS, tanto en muestras de orina, como mediante la reevaluación de planchetas.

- El análisis con Aridus-ICP-SFMS permitió calcular el rendimiento del proceso de extracción, que fue del $90\pm 6\%$.
- El AMD obtenido con Aridus-ICP-SFMS fue alrededor $3,23\pm 0,12$ fg de ^{239}Pu , y de $0,44\pm 0,16$ fg de ^{239}Pu para AMS.
- La incertidumbre asociada a las medidas de Pu fue inferior en todos los casos al 10% en las muestras con menor concentración, tanto para Aridus-ICP-SFMS como para AMS.

Finalmente, destacar que la aplicación de las técnicas de MS aquí descritas constituye una herramienta extremadamente potente y eficaz para la evaluación dosimétrica del personal profesionalmente expuesto a Pu. Es más, su aplicación en bioensayos de Pu supone una alternativa y una mejora de los métodos tradicionalmente aceptados, tanto en sensibilidad e incertidumbre asociada, como en velocidad de ejecución del análisis.

Reassessment of ^{239}Pu in planchets from human urine samples at ultra-trace levels using Aridus-HR-ICP-MS and AMS

Héctor Hernández-Mendoza,^a Elena Chamizo,^b Antonio Delgado,^a Manuel García-León^b and Abel Yllera^{a*}

^a*Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT) Av. Complutense 22, 28040 Madrid, Spain.*

^b*Centro Nacional de Aceleradores (CNA), Av. Thomas A. Edison, 41092 Sevilla, Spain*

*Corresponding author: Tel: +34 91 346 65 82

E-mail address: abel.yllera@ciemat.es

Abstract

A new analytical method has been developed for the quantification of ^{239}Pu in alpha spectrometry (AS) planchets obtained from spiked human urine samples. The main objective of this work was to improve the analytical sensitivity provided by AS, by using mass spectrometric techniques (MS), in particular High Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, with an Aridus desolvator (Aridus-HR-ICP-MS), and compared with the results obtained by Accelerator Mass Spectrometry (AMS). Minimum Detectable Activity (MDA) values of ^{239}Pu obtained by Aridus-HR-ICP-MS and AMS were 3 fg and 0.4 fg of ^{239}Pu per sample, respectively, which is much better than the attainable values measured by AS (50 fg of ^{239}Pu /sample, approximately). The accuracy of the measurements (2σ) was similar for both AMS and Aridus-HR-ICP-MS. Therefore, the MS techniques tested in this work are very powerful tools that can be used with dosimetric purposes from urine human samples (AS planchets), giving excellent results when a reassessment of planchets is needed (samples with a Pu content below or at the AMD levels measurable by AS).

Introduction

The successful measurement and assessment of internal exposure is highly dependent of the effective capabilities for measuring radionuclides in

biological samples (urine, feces, blood or other secretions).¹⁻² Normally, during the Pu bioassay of human urine samples, a preconcentration and purification of Pu is performed to prevent the presence of U in the sample previously to the quantitative analysis, because it can interfere the signal of Pu isotopes, and also to remove matrix elements from the urine. For this purpose, ion-exchange or solid-phase extraction chromatography are extensively used in worldwide laboratories.³⁻¹³

AS is the most commonly used radioanalytical technique for the determination of ^{239}Pu in routine bioassay.⁷ However, this technique shows some sensitivity shortcomings when activity levels are below of 0.3 mBq of ^{239}Pu /sample (~1.3 pg of ^{239}Pu /sample).¹¹ Several parameters, such as counting efficiency, chemical yield, sample counting time, tracer activity used and background condition the uncertainties of the results and, therefore the MDA of AS.¹¹⁻¹³

Different techniques of mass spectrometry (MS), such as Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS),³⁻⁶ Thermal Ionization Mass Spectrometry (TIMS)¹⁴⁻¹⁵ and Accelerator Mass Spectrometry (AMS)¹⁶⁻¹⁷ are good candidates for the dosimetric control of ionizing radiation exposed personnel, offering the ability to identify and quantify small amounts of different nuclides present in a sample.¹⁸⁻²¹ Because of its excellent detection sensitivity, MS techniques are useful tools for measuring at sub-fg levels of concentration, and also isotope ratios that would be difficult to measure using the conventional radioactive decay counting techniques.

The aim of this study was to develop and validate an analytical method for the reassessment of AS planchets containing small amounts of ^{239}Pu (fg/sample), using Aridus desolvator coupled with a HR-ICP-MS, and a 1MV compact AMS system.

Materials and methods

Instrumentation

Spectrophotometry and Alpha spectrometry

Creatinine determination was carried out by using a spectrophotometer Zuzi (Model 4211/20; wavelength range: 325 nm to 1000 nm). AS measurements were performed with an Alpha Analyst Integrated Alpha Spectrometer (Canberra) equipped with Passivated Implanted Planar Silicon (PIPS) detectors. These detectors have an active area of 450 mm² and their nominal alpha-peak energy resolution, expressed as full width at half-maximum (FWHM), is 18 keV. The planchets (Pu sources) were placed at 1.5 mm from the detector surface. For the evaluation of the spectra, the Genie 2000 v.2.2 software (Canberra) was used.

HR-ICP-MS instrumentation

Pu quantification was carried out with an Element XR Mass Spectrometer (Thermo Fisher Scientific). The sample introduction system employed was an Aridus desolvator (CETAC Technologies, Inc.) with a Microflow nebulizer PFA-100 (Elemental Scientific Inc.). Aqueous samples were introduced to the desolvator in the continuous flow mode by using an auto sampler CETAC ASX-520 (CETAC Technologies, Inc.). The ICP torch was shielded with a grounded platinum electrode (GuardElectrodeTM, Thermo Scientific).

Accelerator mass spectrometry

The measurements of ²³⁹Pu were performed using a 1 MV compact AMS system (HVEE), called SARA (Spanish Accelerator for Radionuclides Analyses). SARA is installed at the Centro Nacional de Aceleradores (CNA), in Sevilla (Spain).¹

Standards, reagents and resins

²³⁹Pu and ²⁴²Pu were obtained from two certified solutions supplied by the National Physical Laboratory (NPL, England). Standards were diluted with 2M HNO₃ to obtain stock solutions with a concentration of 20.3 mBq mL⁻¹ (140.4 pg mL⁻¹) of ²⁴²Pu and 7.9 mBq mL⁻¹ (3.4 pg mL⁻¹) of ²³⁹Pu. ²³⁷Np (chosen as external standard for HR-ICP-MS measurements) was obtained from Amersham International plc. This standard was diluted with 0.1 M HCl to obtain a stock solution with a concentration of 3.256 mBq mL⁻¹ (71 mg L⁻¹). For HR-ICP-MS mass calibration, a certified multi-element solution XXIII (Ba, B, Co, Fe, Ga, In, K, Li, Lu, Na, Rh, Sc, Y, Tl, and U) from Merck was used. The rest of salts and solutions were prepared using analytical grade reagents (Merck). High

purity water ($> 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) was obtained from a Milli-Q Element A10 Century (Millipore). Nitric acid was purified by subboiling distillation (Milestone, Model Duopur). Certified Ar gas (99.999%) was supplied by Air Liquide España. Certipur[®] iron ICP standard (Merck) and 500 mesh pure aluminium powder (Alfa-Aesar) were employed for preparation of the AMS cathodes. AG1X2 anion-exchange chromatography resins (Bio-Rad Laboratories) were used for Pu purification. The HR-ICP-MS measurements were carried out in a clean room (ISO 6 class) at $24 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Experimental

The different features of the method for determination of Pu in urine samples and planchets reassessment are shown in the diagram of Fig. 1.

Collection of urine samples

Fourteen samples of 24 h human urine were collected from several healthy adult male volunteers. The analytical procedure was initiated the same day of the collection by the determination of creatinine content in the urine samples, in order to check if those met the requirements needed previous to bioassay. The method is based on the Jaffé reaction: addition of sodium picrate into the urine and formation of a red colored complex (sodium picramate).²² The color intensity is directly proportional to the concentration of creatinine at a specific wavelength (520 nm), which is measured with a spectrophotometer.²³

Co-precipitation

The 24 h urine samples were transferred into respective graduated cylinders, acidified with concentrated HNO_3 to $\text{pH} = 1$ and heated in a hot plate with magnetic stirring at $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ during 2 h. Then, the hot samples were spiked with known amounts of ^{242}Pu (8.4 pg) as internal standard, and ^{239}Pu (from 8 to 40 fg, see Table 1). Next, 1 ml of concentrated orthophosphoric acid was added, keeping heating and stirring during further 1 h. Then, the Pu was coprecipitated by addition of concentrated ammonium hydroxide until $\text{pH} = 9$, keeping the same conditions during 1h. The precipitate was allowed to settle overnight and then separated by decanting and centrifugation. The supernatant was discarded, and the graduated cylinder was washed several times with 0.5M HNO_3 . The washings were also transferred into the centrifuge tube, and the

precipitate was dissolved with 5 mL of 8M HNO₃ plus slow addition 3 mL of concentrated H₂O₂.

The preparation of blank samples followed the same treatment as that applied for spiked samples (but, in this case, no Pu spike was performed at all).

Mineralization, radiochemistry, electrodeposition and preparation cathode for AMS

A summary of the processes involved in this section is given in Fig. 1. A detailed description was provided in previous studies.^{1, 7}

Recovery of Pu for planchets reassessment

In order to determine the radiochemical yield during Pu purification, the samples were previously measured by AS. After that, the extraction of Pu from the planchets was carried out. Basically, the procedure consisted in to dip the planchets into 20 mL of 5% HNO₃ overnight. Next, the planchets were rinsed with 5% HNO₃ and the extracts were heated to dryness and, finally, the residues were diluted with 5% HNO₃ in respective 10 mL volumetric flasks (4.4 fg of ²³⁷Np were also added as external standard for Aridus-HR-ICP-MS determinations). Each sample was divided into two equal aliquots for the quantification of Pu by Aridus-HR-ICP-MS and AMS, respectively.

Results and discussion

Creatinine test

The Pu is a long-lived radionuclide which is excreted from the human body in very small amounts, that not always can easily be detected by AS. The recommendation for good routine analysis of Pu in urine establish that the sample must contain the creatinine equivalent of, at least, of 24 h excretion.²⁴ This contributes to minimize the uncertainty of the results normalized to 24 h excretion, specially when analyzing spot urine samples.^{7-8,13, 25} Therefore, the determination of creatinine in urine is essential for monitoring the excretion of long-lived radionuclides and it is the decisive test for accepting or reject the sample.²⁶ In this work, the creatinine content was, 1.1±0.13 g L⁻¹ (n= 15), which is according to ICRP-89 recommendations for accepting urine samples.²⁷

Treatment of sample and purification of Pu

Co-precipitation of Pu with calcium phosphate in ammonia medium was performed to pre-concentrate the samples⁵ between 1-2 orders of magnitude being, therefore, adequate to analyze Pu in human urine at the sub-pg L⁻¹ concentration level.

Normally, the routine bioassay of long-lived radionuclides, requires mineralization of the sample, which is usually carried out by wet ashing of the precipitate followed by muffle furnace incineration.^{11, 28} This process is very time-consuming and tedious. Therefore, in this work the mineralization was performed by microwave assisted acidic digestion (8M HNO₃ and concentrated H₂O₂) of the precipitate, which accelerates the preparation of the sample.

When using MS and radiochemistry techniques for Pu quantification, the elimination of matrix elements contained in sample is a must. Thus, radiochemical purification using anion-exchange resins (BioRad AG1X2) were employed with this purpose. The purification of Pu using AG1X2 resin does not present significant drawbacks when compared against other Pu purification processes which, in principle, are faster⁶ (processing of 10 samples only requires 2-4 h). Moreover, as measured by AS, radiochemical purification using AG1X2 resin provides an excellent recovery of Pu in urine samples (Table 1).

Optimization of Aridus-HR-ICP-MS parameters

The instrumental settings were optimized for the quantification of ²³⁷Np, ²³⁹Pu and ²⁴²Pu. Optimization was performed in three steps:

- 1) Tuning the parameters of Aridus (argon and nitrogen flow) to obtain the maximum intensities for ¹¹⁵In and ²³⁸U isotopes, using a dilution (1:10) of the certified multielement solution in low resolution mode. The signal intensity for these isotopes was about 7.0×10⁵ cps and 1.0×10⁶ cps, respectively, and the ²³⁸U oxides content in the plasma was approximately of 0.6% (Fig 2a).
- 2) Optimization of maximum ion intensity for ²⁴²Pu and minimum background at $m/z = 239$ using a ²⁴²Pu standard solution of 0.4 pg L⁻¹. The background signal obtained during this step was 0.3±0.1 cps to $m/z = 239$. Additionally, a stability test was also performed for monitoring the signal of ²³⁷Np, ²³⁸U, ²³⁹Pu, ²⁴⁰Pu and ²⁴²Pu isotopes

(10, 0.1, 32, 2.7 and 42 pg L⁻¹, respectively) in standard samples of these isotopes during 15 min (Fig. 2b).

- 3) Optimization of the method for the measurement of ²³⁷Np, ²³⁸U, ²³⁹Pu, ²⁴⁰Pu and ²⁴²Pu isotopes. Instrumental operation conditions are summarized in Table 2.

Reassessments of Pu in AS planchets

The main problem when measuring ²³⁹Pu by ICP-MS appears when U is present in the sample (isobaric interferences, due to the formation of ²³⁸U¹H⁺ ion in the plasma) and also from the tailing effect of the U peak, which leads to an increase in the background signal at *m/z*= 239. Some alternatives have been considered in the literature in order to avoid these problems: one option consists in to use a low-flow micronebulizer coupled with a membrane desolvator as sample introduction system³, and the second option consists in to use deuterated water as sample solvent.²⁹ In this work, the influence of 0.1 ppb of ²³⁸U in HNO₃ 5% on the background signal at *m/z*= 239 was checked using Aridus-HR-ICP-MS. In this case, the background signal at *m/z*= 239 was 1.0±0.3 cps (n= 10), whereas the background signal obtained with HNO₃ 5% blanks at *m/z*= 239 was 0.3±0.2 cps. These results are in good agreement with other works for the analysis of Pu in urine samples.⁵

External calibration was employed during the reassessment of ²³⁹Pu and ²⁴²Pu in AS planchets for Aridus-HR-ICP-MS analysis (Fig. 3). All the solutions (blanks, standards and samples) were spiked with ²³⁷Np as external standard, to monitor the instrument stability during the measurements (Fig 4).

The results indicate the excellent chemical recovery achieved with the proposed extraction process for the reassessment of Pu from AS planchets (Table 3). However, it must be pointed out that, in the case of AMS measurements, the presence of some traces of iron coming from the planchet (due to corrosion) sometimes can affect the sensitivity of the analysis.⁷

Calculation of ²³⁹Pu content in the initial urine samples was performed by considering the isotopic ratio of ²³⁹Pu/²⁴²Pu (measured by Aridus-HR-ICP-MS in the extracts obtained from the planchets) and the initial content of ²⁴²Pu (spike) in the urine. Results are shown in the 5th column of Table 3.

Limit of detection (LOD) and MDA for Pu using AS, Aridus-HR-ICP-MS and AMS were calculated from the analysis of urine blank samples (n= 10). LOD for Pu by AS was calculated using the Currie³⁰ criterion and, then, MDA was calculated considering the LOD, the average chemical yield for Pu (80±7%) and the total volume of urine (1725±114 mL). In the case of Aridus-HR-ICP-MS and AMS, the LOD and AMD calculations were made as described in a previous work.^{7,31}

Conclusions

Different analytical methods for quantifying ²³⁹Pu in urine 15 with MS techniques have been tested and adapt in this paper. The results indicate that they are suitable for dosimetric monitoring of the staff professionally exposed to Pu. The analytical techniques employed (Aridus-HR-ICP-MS and AMS) have shown their aptitude for this kind of controls, 20 exhibiting excellent sensitivity for Pu analysis, and a remarkable increase of productivity when compared against AS. This opens the possibility to give support to the internal dosimetry service for routine analysis in those cases where the Pu content is below the MDA achieved by AS, both in urine 25 samples as in reassessment of planchets.

References

- 1 H. Hernández-Mendoza, E. Chamizo, A.Yllera, M. García-León and A. Delgado, *Nucl. Instr. and Meth. B.*, 2009, **268**, 1331-1333.
- 2 C. Schmitzer, H. Fischer, A. Andrasi, C. Bouvier, L. Carlan, D. Franck, V. Höllriegl, W.B. Li, U. Oeh, J. Ritt, P. Roth, W. Wahl and P. Zombori, *Radiat. Prot. Dosim.*, 2007, **125**, 472-476.
- 3 B.R. Ting, R.S. Pappas and D.C. Paschal, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2003, **18**, 795–797.
- 4 V.N. Epov, K. Benkhedda, R.J. Cornett and R.D. Evans, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2005, **20 (5)**, 424-430.
- 5 M.V. Zoriy, C. Pickhardt, P. Ostapczuk, R. Hille and J.S. Becker, *Int. J. Mass. Spectrom.*, 2004, **232 (3)**, 217-224.
- 6 D. Lariviere, T.A. Cumming, S. Kiser, C. Li and R.J. Cornett. *J. Anal. At. Spectrom.*, 2008, **23**, 352-360.

- 7 H. Hernández-Mendoza, E. Chamizo, A.Yllera, M. García-León and A. Delgado, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2010, DOI: 10.1039/c002420a.
- 8 S.L. Maxwell III and B.K. Culligan, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2009, **279(3)**, 901-907.
- 9 E.J. Wyse and D.R. Fisher, *Radiat. Prot. Dosim.*, 1994, **55(3)**, 199-206.
- 10 J.C. Harduin, B. Peleau and D. Levavasseur, *Radioprotection.*, 1996, **32(2)**, 229-245.
- 11 L.M. Robredo, T. Navarro and I. Sierra, *J. Appl. Radiat. Isot.*, 2000, **53 (1-2)**, 345-350.
- 12 C. Hurtgen and C.A. Cossonnet, *Radiat. Prot. Dosim.*, 2003, **105 (1-4)**, 375-378.
- 13 I. Giardina, L. Andreocci, S. Bazzarri, L. Mancini and P. Battisti, *Czech. J. Phys.*, 2006, **56(1)**, D265-D270.
- 14 N. L. Elliot, G.A. Bickel, S.H. Linauskas and L.M. Paterson, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2006, **267**, 637-650.
- 15 S. E. Wagner, S. Boone, J. W. Chamberlin, C. J. Duffy, D. W. Efur, K. M. Israel, N. L. Koski, D. L. Kottmann, D. Lewis, P. C. Lindahl, F. R. Roensch and R. E. Steiner, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 2001, **248 (2)**, 423-429.
- 16 N. D. Priest, G.D. Pich, L. K. Fifield and R. G. Cresswell, *Radiat. Res.*, 1999, **152**, S16-S18.
- 17 T.A. Brown, A.A. Marchetti, R.E. Martinelli, C.C. Cox, J.P. Knezovich and T.F. Hamilton, *Nucl. Instr. and Meth. B.*, 2004, **223**, 788-795.
- 18 Becker J.S. Plenary Lecture. *J. Anal. At. Spectrom.*, 2002, **17**, 1172-1185.
- 19 X. Hou and P. Roos, *Anal. Chim. Acta.*, 2008, **608**, 105-139.
- 20 D. Lariviere, V.F. Taylor, R.D. Evans and R.J. Cornett, *Spectrochimica. Acta. Part B.*, 2006, **61 (8)**, 877-904.
- 21 Becker J.S. Inorganic mass spectrometry: principles and applications. *John Wiley & Sonc Inc.* 416-432, (2007). ISBN: 978-0-470-01200-0.
- 22 J. Vasiliades, *Clin. Chem.*, 1976, **22(10)**, 1164-1671.
- 23 K. Duke, *Radiat. Prot. Dosim.*, 1998, **79 (1-4)**, 125-128.

- 24 Laboratorio de Bioeliminación del Proyecto Dosimetría de las Radiaciones. CIEMAT, Madrid, España. Determinación de Plutonio ($^{239+240}\text{Pu}$ y ^{238}Pu) en Muestra de Orina mediante Espectrometría Alfa en el Servicio de Dosimetría Interna CIEMAT. *Protocolo del Servicio de Dosimetría Interna*. PE-IA-DR-03. Revision 0, 1-14. Method using for determination of $^{239+240}\text{Pu}$ y ^{238}Pu in urine samples: PE-IA-DR-03. Revision **2**, 2002.
- 25 R. Marco, E. Katorza, R. Gonen, U. German, A. Tshuva, O. Pelled, O. Paz-Tal, A. Adout and Z. Karpas, *Radiat. Prot. Dosim.*, 2008, **130(2)**, 213-223.
- 26 Laboratorio de Bioeliminación del Proyecto Dosimetría de las Radiaciones. Recensión y aceptación de muestra biológicas: determinación de creatinina. *Protocolo del Servicio de Dosimetría Interna*. PTBIO20. Revision 1, 2-15 (2010).
- 27 ICRP (International Commission on Radiological Protection). Ann. ICRP Publication 89 (Oxford: Pergamon Press), 2002., **32(3-4)**, 1-278.
- 28 J.C. Harduin, B. Peleau and D. Levavasseur, *Radioproteccion.*, 1996, **31(2)**, 229-245.
- 29 V. Vais, C. Li and K. Cornett, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2004, **19**, 1281-1283.
- 30 L.A. Currie, *Anal. Chem.*, 1968, **40**, 586-593.
- 31 H. Hernández-Mendoza, E. Chamizo, A. Delgado M. García-León and A.Yllera, Comparison of methods and application of alpha spectrometry and mass spectrometry techniques for ^{239}Pu in biological samples. Submitted to *J. Anal. At. Spectrom.*

Table 1. Results of radiochemical yield for Pu (measured by AS). All the samples were initially spiked with 8.4 pg of ^{242}Pu .

Sample	^{239}Pu added (fg)	^{242}Pu measured (pg)	Recovery yield (%)
1	8	6.49±0.43	78
2	10	6.82±0.58	82
3	10	6.24±0.50	75
4	17	6.74±0.43	81
5	20	6.49±0.70	78
6	26	6.74±0.67	81
7	32	6.24±0.67	75
8	35	8.07±0.80	97
9	40	6.07±0.66	73

Table 2. Instrumental conditions optimized for the measurement of Pu from planchets by Aridus-HR-ICP-MS.

Solution uptake rate	0.1 mL min ⁻¹
RF power	1300 W
Cool gas flow rate	16.0 L min ⁻¹
Auxiliary gas flow rate	0.70 L min ⁻¹
Nebulizer gas flow rate	1.194 L min ⁻¹
Ion extraction lens potential	-2000 V
Mass resolution (m/Δm)	300
Isotope	^{237}Np ; ^{238}U ; ^{239}Pu ; ^{240}Pu ; ^{242}Pu
Samples per peak	100
Setting time	10 ms
Sample time	10 ms
Points per width	10
Peak schiff	1.0
Mass window	100 %
Integration window	20 %
Scan type	E-Scan
Detection mode	Triple (ion counting, analogue and Faraday)
Total analysis time per sample	3 min
Sampler/skimmer cone	Nickel
Aridus desolvator	Sweep gas (Ar): 4.57 mL min ⁻¹ Nitrogen flow: 6 mL min ⁻¹
Nebulizer	Microflow nebulizer PFA-100

Table 3. Reassessment of AS plachets: comparison of results for ^{239}Pu obtained with Aridus-HR-ICP-MS and AMS.

Sample	Aridus-HR-ICP-MS			AMS	
	^{239}Pu (fg)	^{242}Pu (pg)	Recovery yield from plachets (% of ^{242}Pu)	^{239}Pu (fg) ^a	^{239}Pu (fg) ^a
1	5.4±0.9	5.5±0.3	85	8.1±1.7	8.2±0.8
2	6.5±0.8	5.3±0.3	78	10.1±1.7	9.8±0.6
3	7.2±0.5	6.0±0.3	96	10.0±1.2	10.3±0.8
4	13.7±0.7	6.7±0.3	99	17.1±1.7	17.4±0.9
5	13.9±0.8	5.8±0.3	89	20.0±2.1	19.5±0.9
6	19.3±1.2	5.9±0.3	88	27.1±3.0	25.8±1.4
7	22.4±1.2	5.8±0.3	92	32.3±3.4	31.6±1.6
8	30.6±1.4	7.0±0.4	87	36.1±3.4	34.8±1.3
9	27.6±1.4	5.7±0.3	94	40.1±4.0	38.3±1.8

^a Calculated mass of ^{239}Pu in the urine samples.

Table 4. Results obtained in the LODs and AMDs of Pu in urine human samples by AS, Aridus-HR-ICP-MS and AMS.

Method	LOD		MDA	
	^{239}Pu (fg/sample)	^{242}Pu (fg/sample)	^{239}Pu (fg/sample)	^{242}Pu (fg/sample)
AS	20.2±2.2	388.6±80.1	51.1±5.2	921.5±125.6
HR-ICP-MS ^a	4.87±0.09	6.89±0.34	23.43±0.94	100.43±7.29
Aridus-HR-ICP-MS	0.81±0.03	0.80±0.04	3.23±0.12	5.30±0.23
AMS ^b	0.20±0.08	0.83±0.03	0.44±0.16	1.76±0.66

^a These data correspond to a previous work³¹

^b Data given in the LOD columns for Pu by AMS corresponds to the “critical level” as defined by Currie³⁰ as $\text{LC} = 2.33(\sigma_B^{1/2})$, where σ_B correspond to the standard deviation of blank samples.

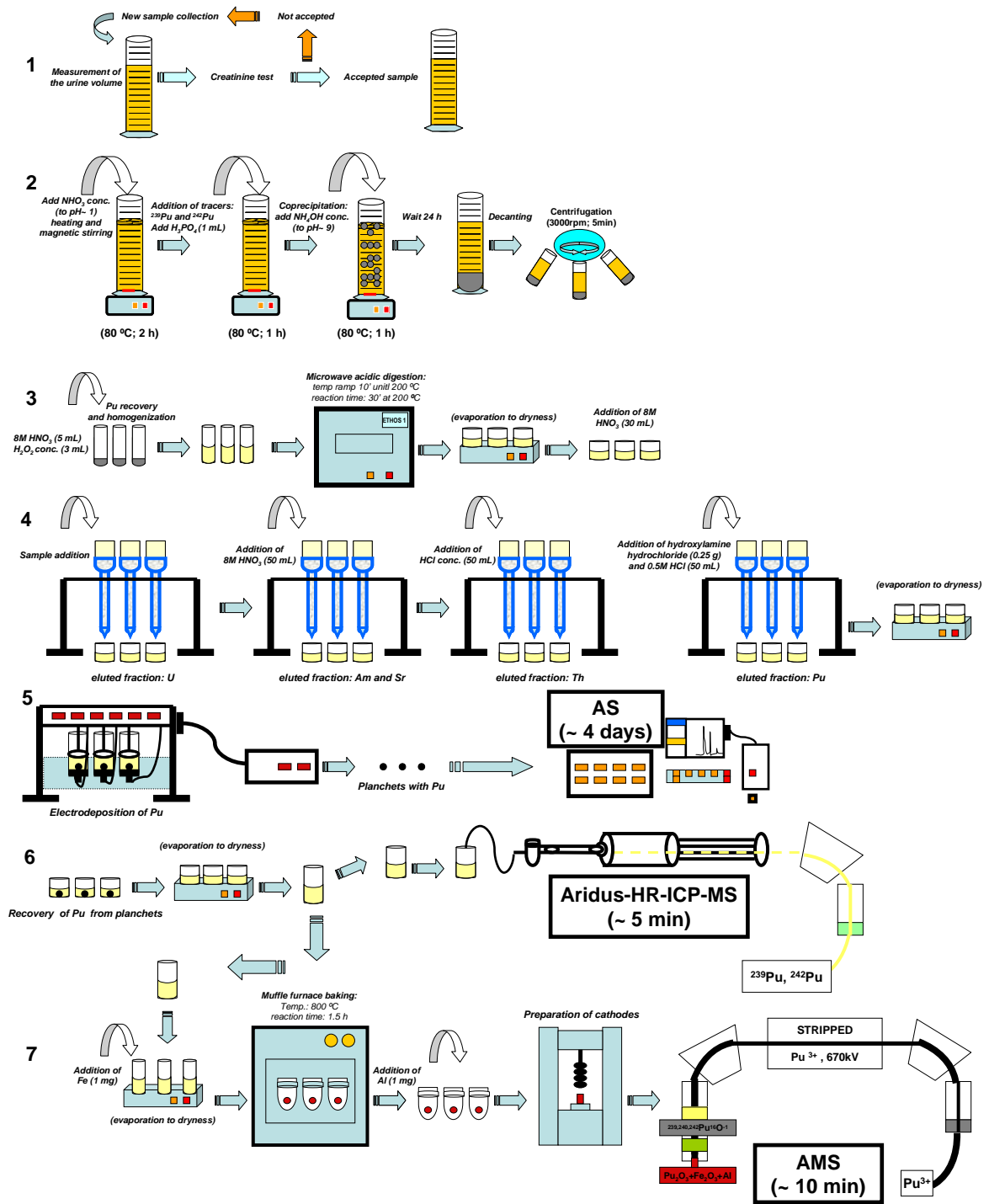


Fig. 1 Schematic diagram of the urine samples preparation procedure and measurements of Pu by AS, HR-ICP-MS and AMS: 1) Collected of sample (~ 24 h times); 2) Co-precipitation (~ 24 h times); 3) Mineralization (~ 2 h times); 4) Radiochemistry (~ 3 h times); 5) Electrodeposition (~ 2 h times); 6) Recovery of Pu from planchets (~ 24 h times) and 7) Preparation cathode for AMS (~ 3 h times).

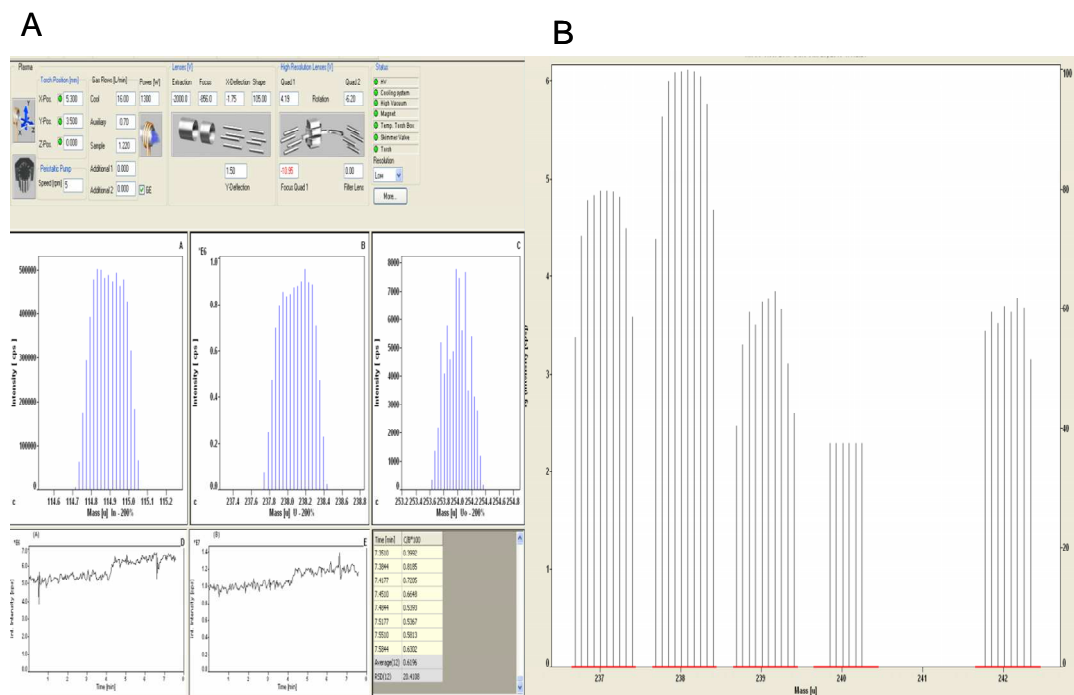


Fig. 2 A) Maximum intensity of the isotopes ^{115}In and ^{238}U using 0.1 ng L^{-1} from TUNE in low resolution. B) Optimization maximum ion intensity for stability test with ^{237}Np , ^{238}U , ^{239}Pu , ^{240}Pu , and ^{242}Pu .

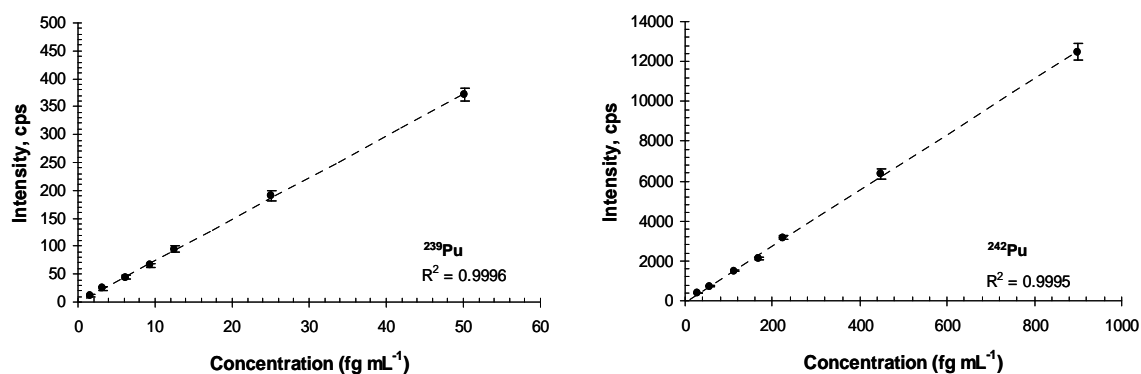


Fig. 3 Calibration curves for ^{239}Pu and ^{242}Pu measured by Aridus-HR-ICP-MS

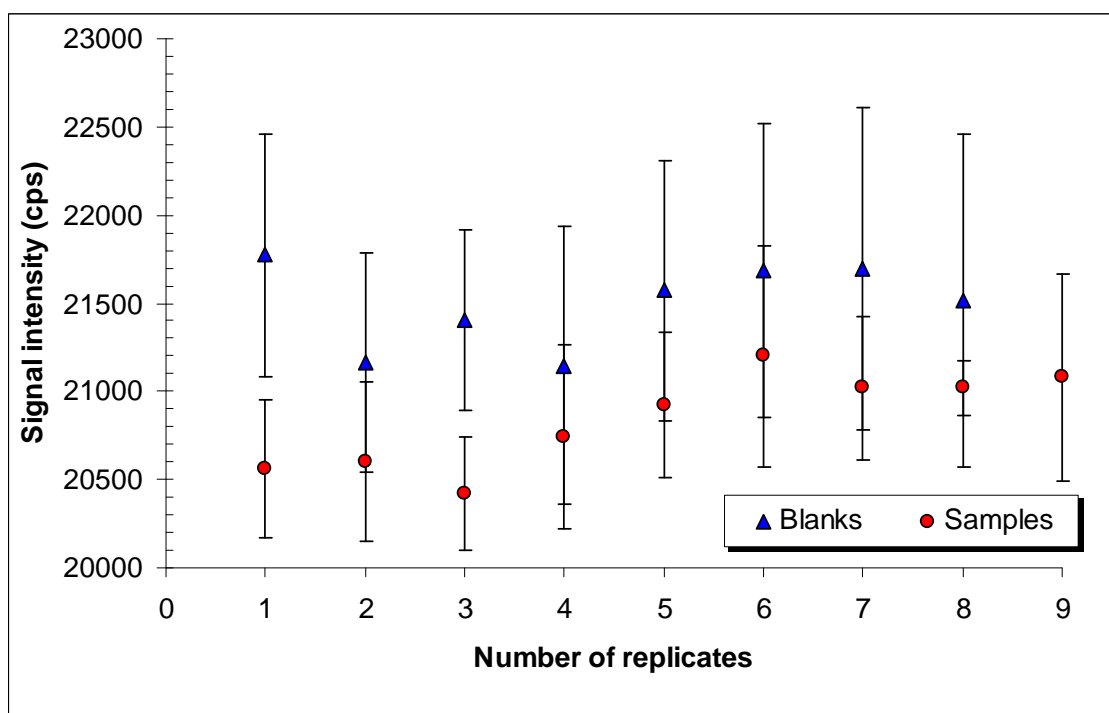


Fig. 4 Instrumental stability of the Aridus-HR-ICP-MS, monitored during the analyses using ^{237}Np as external standard.

3.13 Efecto matriz en las medidas de ^{239}Pu en muestras de orina por ICP-SFMS

3.13.1 Introducción

Los métodos de preparación de la muestra y el análisis de ^{239}Pu por AS suelen ser complejos y habitualmente requieren mucho tiempo de ejecución. Así, uno de los retos a los que se enfrentan los laboratorios de bioeliminación consiste en desarrollar nuevos procedimientos analíticos cada vez más rápidos, eficientes y sensibles para la determinación de actínidos en excretas humanas. Por ello, el objetivo de este trabajo fue desarrollar un método analítico que permitiese evaluar la capacidad de medida de ^{239}Pu en orina en un análisis directo por ICP-SFMS, y que pudiera utilizarse como *fast screening* ante una situación de emergencia radiológica.

El estudio se realizó usando diferentes fracciones de orina de 24 h (10, 25, 50 y 100 mL), que fueron trazadas con concentraciones variables de ^{239}Pu (1,2 hasta 96 fg), empleando como patrón interno ^{242}Pu (6,9 pg). La muestra se preparó mediante evaporación, seguida de una digestión ácida asistida por microondas para eliminar la materia orgánica y finalmente fue aforada con HNO_3 5% v/v a 10 mL. Como patrón externo, se empleó ^{237}Np (44 fg) en todas las muestras. Las condiciones instrumentales para el análisis de ^{239}Pu por ICP-SFMS se muestran en la Tabla 1 del póster.

3.13.2 Resultados

- El tiempo necesario para completar el análisis para 10 muestras es aproximadamente 4 h.
- Para calcular la concentración de ^{239}Pu en las fracciones de orina, se construyeron rectas de calibración externa, usando la misma matriz.
- La supresión de la señal de ^{239}Pu , ^{242}Pu y ^{237}Np en la fracción de 100 mL fue aproximadamente del 90 % con respecto al blanco de HNO_3 5 % v/v.
- El isótopo ^{237}Np se ha revelado como un excelente patrón externo en la determinación de Pu en muestras de orina humana.

- El mejor valor del LOD para ^{239}Pu por ICP-SFMS correspondió a la fracción de 25 mL de orina, con un valor de $3,53 \pm 0,66$ fg/25 mL orina, que traducido a orina de 24 h, supone una AMD de $240,04 \pm 44,88$ fg de ^{239}Pu /muestra de 24 h ($0,55 \pm 0,10$ mBq/muestra de 24 h). Este valor, es ligeramente superior al que se puede obtener con AS en análisis de rutina de personal profesionalmente expuesto.
- Los coeficientes de correlación calculados mediante regresión lineal de los datos experimentales, obtenidos con los patrones en orina, son muy buenos, especialmente en las fracciones de 10 y 25 mL (en la fracción de 100 mL el efecto matriz es tan grande que el comportamiento no es lineal). Así, a la vista de los resultados, el volumen de orina recomendado para este método es de 25 mL. A partir de ahí, la influencia del efecto matriz es progresivamente mayor, provocando una fuerte reducción en la calidad de los resultados.

Este estudio preliminar demuestra la capacidad de medida de ^{239}Pu en orina mediante análisis directo por ICP-SFMS. El LOD alcanzado para ^{239}Pu con este método es ligeramente superior al AMD obtenido por AS. Por tanto, este método analítico podría considerarse como una alternativa de análisis rápido ante una situación de emergencia radiológica frente los protocolos existentes. Actualmente se continúa trabajando en el desarrollo de esta línea de investigación, con el objeto de mejorar los LOD (y por tanto, la AMD), adoptando dos enfoques diferentes: el primero, consiste en trabajar con fracciones mineralizadas de orina (diluidas a 50 mL), para determinar el volumen inicial de muestra óptimo; y el segundo consiste en realizar la determinación de ^{239}Pu directamente sobre diluciones de la orina (sin digestión ácida), que permitiría una mayor rapidez (y productividad) en el análisis.

Este trabajo se ha presentado en la 18th International Mass Spectrometry Conference, celebrada en Bremen (Alemania) en septiembre de 2009.

CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN INTEGRADORA

Visión general

Las determinaciones de los radionucleidos de Pu en muestras medioambientales y de bioensayo requieren habitualmente una preparación previa de la muestra (preconcentración y posterior purificación) para luego ser medidos por técnicas radiométricas. Actualmente, la AS es técnica radiométrica de uso común en el control ocupacional de trabajadores expuestos a incorporar radionucleidos de Pu (^{238}Pu , ^{239}Pu y ^{240}Pu). En el CIEMAT se encuentra el laboratorio de bioeliminación, centro de referencia en España para los análisis de actínidos en excretas, donde se determina la incorporación de radionucleidos de vida larga que puede ocurrir como resultado de diversas actividades tales como; investigación, industria nuclear, agricultura, medicina etc. Debido a que la tasa diaria de excreción de los radionucleidos en orina es extremadamente baja, el Servicio de Dosimetría Personal Interna recoge habitualmente muestras de orina de 24 h para su análisis por AS.

En este trabajo, se ha realizado una comparación exhaustiva de AS con AMS e ICP-SFMS para su aplicación al análisis de radionucleidos de Pu en muestras de orina humana. La experimentación realizada ha permitido conocer las ventajas y limitaciones de cada técnica y abrir líneas de investigación a nuevas metodologías poco o nada exploradas hasta el momento como, por ejemplo, la posibilidad de reevaluar planchetas en situaciones en las que no es posible cuantificar el contenido en Pu mediante AS (actividad de Pu en la muestra inferior a la AMD). No obstante, la AS ha demostrado ser una herramienta muy rentable y útil a la hora de validar los procesos de optimización en la preparación de la muestra.

Análisis de ^{239}Pu en muestras de orina humana por AS

Como se ha mencionado anteriormente, los principales inconvenientes a la hora de medir emisores alfa con técnicas radiométricas para el control dosimétrico del personal expuesto a las radiaciones ionizantes, son el tiempo y personal de laboratorio requerido para la preparación de la muestra y el tiempo de recuento necesario para el análisis por AS. El factor tiempo resulta muy difícil de reducir, algo que es de extrema importancia cuando se trata de establecer protocolos de emergencia ante cualquier accidente nuclear, o en

situaciones de rutina que requieren una acción rápida. Así, uno de los objetivos prioritarios de esta memoria de Tesis Doctoral fue realizar medidas de ^{239}Pu en muestras de orina desarrollando nuevos métodos analíticos para la cuantificación y reevaluación de ^{239}Pu por ICP-SFMS y AMS.

En la literatura científica existen diferentes estudios que hacen referencia a la normalización del contenido de actínidos presentes en una fracción de muestra de orina, al volumen total de orina (24 h) tomando como referencia el contenido de creatinina [161-162]. Este fue el punto de partida para el desarrollo de este trabajo de investigación, el cual fue enfocado a la determinación de ^{239}Pu en orina en fracciones de muestras de orina de 24 h. De este modo era posible reducir el volumen de muestra a manejar y, consiguientemente, también se reduciría el tiempo necesario para su preparación previa a la purificación (radioquímica). Asimismo, se presentó la oportunidad de realizar la mineralización de la muestra con un digestor de microondas, proceso este mucho más rápido que la digestión por vía húmeda y calcinación tradicionalmente empleados para la determinación de actínidos por AS [36]. En la Figura 4.1, se muestran los procedimientos estándar usados en la preparación de las muestras de orina humana para medir radionucleidos de Pu por AS en el Laboratorio de Bioeliminación [156]. Es importante mencionar que la correcta ejecución de todos los procedimientos empleados durante la preparación de muestra, previos a la separación radioquímica, resultan críticos para obtener un buen rendimiento radioquímico. Dichos procedimientos son extremadamente laboriosos y requieren una cuidadosa atención durante la realización de los ensayos para evitar pérdidas del analito. Finalmente, mencionar que la productividad de un laboratorio bioeliminación para el control de trabajadores expuestos se encuentra, en promedio, entre 300 y 500 análisis por año, e incluso más, según las necesidades del CSN.

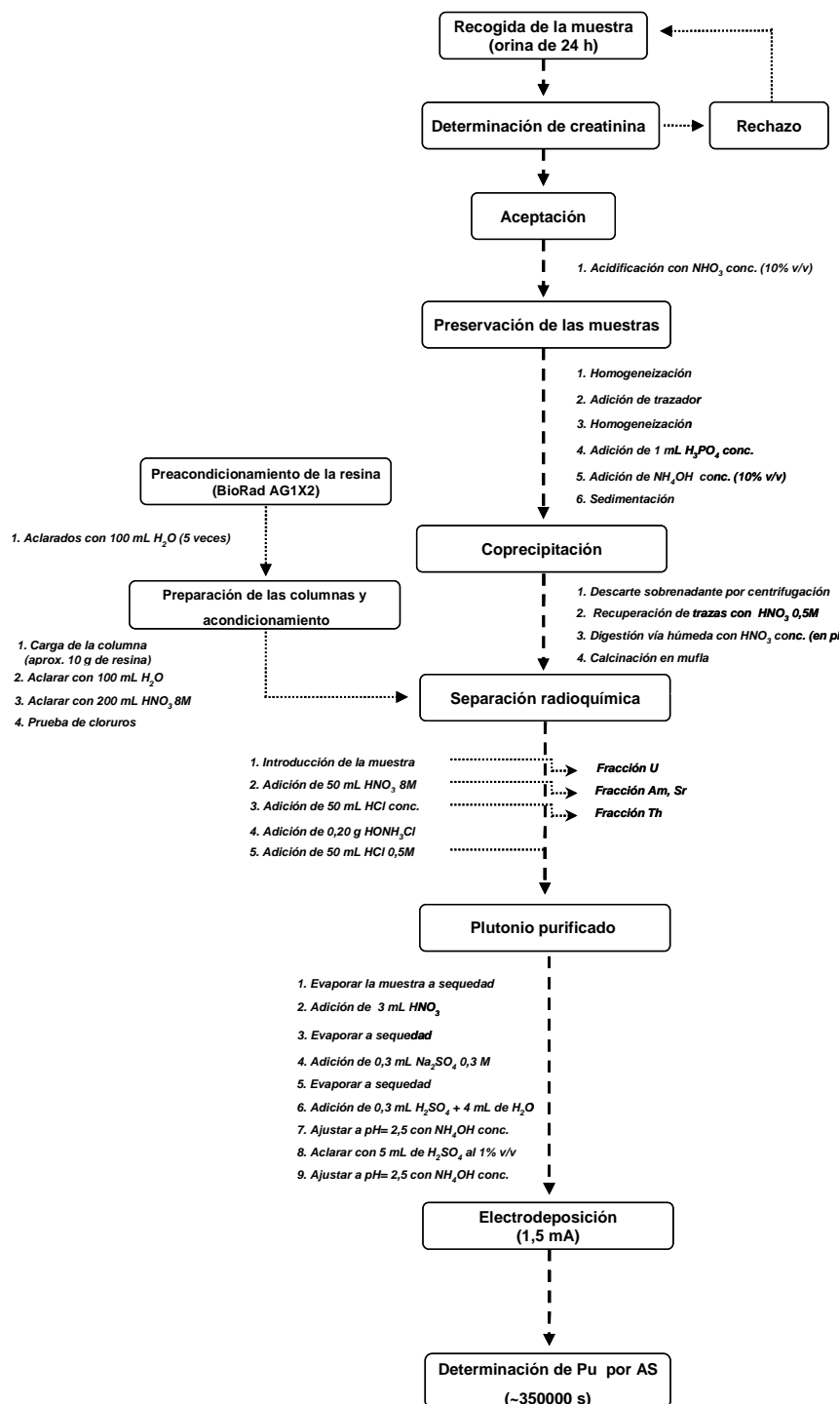


Figura 4.1 Diagrama de los procesos estándar empleados habitualmente en los Servicios de Dosimetría Personal Interna Los procesos completos se describen en el Capítulo 3. Parte A.

Análisis de ^{239}Pu en muestras de orina humana por AMS

Para la cuantificación de radionucleidos de Pu en muestras de orina humana a niveles de concentración de sub-fg destacan las técnicas de MS:

TIMS, ICP-MS y AMS [102]. Sin embargo, debido al elevado costo que representan en un laboratorio de rutina, y a las “especiales” características de estos analitos desde el punto de vista legal (se requieren laboratorios autorizados y controlados, personal capacitado, etc.) los estudios existentes con estas técnicas son escasos cuando se comparan con otros analitos “comunes” (por ejemplo, metales pesados, As, Ca, Se, etc.). Estas técnicas basadas en la MS son extremadamente sensibles y aportan resultados con una elevada precisión y exactitud en las medidas de isótopos Pu [100]. Además, los valores de AMD son considerablemente mejores que los obtenidos cuando se emplea la AS, por lo que estas técnicas resultan competitivas desde el punto de vista costo/beneficio en las medidas de rutina de ^{239}Pu en muestras de orina humana para el control dosimétrico del personal expuesto a las radiaciones ionizantes y, cuando sea preciso, de la población en general [79].

La posibilidad de utilizar un AMS para determinar ^{239}Pu fue una alternativa excelente a la AS, que permitió reducir el volumen de orina, optimizar el tiempo de preparación de la muestra, acortar el tiempo de análisis y mejorar notablemente la AMD del método, con una menor incertidumbre asociada a la medida. La extremada sensibilidad de AMS para determinar relaciones isotópicas ($^{239}\text{Pu}/^{242}\text{Pu}$) permitió el desarrollo de un nuevo método analítico para medir ^{239}Pu utilizando alícuotas de 25 mL extraídas de muestras de orina de 24 h. Los resultados obtenidos en el Artículo 1, fueron muy prometedores, ya que se demostró el extraordinario potencial de la técnica de AMS y de la metodología desarrollada para su aplicación en dosimetría, tanto para el control dosimétrico del personal profesionalmente expuesto como para la población en situaciones de emergencia nuclear. Con este artículo se abrió la posibilidad de manejar volúmenes de orina relativamente bajos (lo que permitiría realizar el análisis de ^{239}Pu por AS en el resto de la orina de 24 h, si se considerase oportuno) lo que, junto con la aplicación de la evaporación y digestión ácida asistida por microondas de la muestra, redujo radicalmente el tiempo de análisis de aproximadamente 2 semanas (con AS) a 10 horas (con AMS).

En cuanto a la sensibilidad alcanzada, los resultados obtenidos para la AMD de ^{239}Pu en muestras de orina humana en este estudio fue alrededor de

13 fg, que mejora, aproximadamente, en un orden de magnitud la AMD por AS. Sin embargo, es necesario indicar que en este estudio no se pudieron alcanzar los AMD de ^{239}Pu que son habitualmente obtenidas en otras matrices (~ 2 fg). La explicación de este hecho radica en que la concentración del patrón interno (^{242}Pu) adicionada a la muestra de orina de 24 h (en el segundo experimento del Artículo 1) fue escasa ($0,057 \text{ pg mL}^{-1}$), por lo que la alícuota de 10 ml contenía 0,57 pg totales de ^{242}Pu . Desgraciadamente, esta concentración es aproximadamente la mitad de la óptima (1 pg de ^{242}Pu) para la medida de la relación isotópica ($^{239}\text{Pu}/^{242}\text{Pu}$) por AMS. Por este motivo, los niveles de concentración de ^{239}Pu detectados en las alícuotas de 10 mL coincidieron con los niveles del fondo medidos con muestras sin trazar (2 fg en lugar de los 5 fg presentes en la muestra). Otro aspecto importante que debe ser mencionado en este trabajo, es que con AMS no es posible determinar el rendimiento radioquímico del proceso, tal y como ocurre en AS (aunque se podría efectuar una estimación). Es esta ocasión no se disponía de un equipo de AS, el cual fue adquirido para, entre otras aplicaciones, determinar el rendimiento radioquímico de los experimentos realizados en los estudios posteriores, así como para evaluar y comparar los LOD y AMD de la técnica de AS con respecto a AMS e ICP-SFMS.

Los objetivos del Artículo 2, presentado en esta Tesis Doctoral, se centraron en dar solución a los problemas surgidos en el Artículo 1. Para las investigaciones se emplearon muestras de orina con un volumen total de 500 mL, las cuales fueron trazadas con concentraciones conocidas de ^{239}Pu , pero en el límite de la AMD por AS (entre 0,2 y 0,3 mBq, es decir, entre 87 y 130 fg de ^{239}Pu) o por debajo de ella. La muestra fue preparada según el procedimiento optimizado que se describe en el Artículo 1, y la purificación de Pu se efectuó empleando resinas de dos tipos: intercambio iónico (BioRad AG 1X2) y extracción en fase sólida (Eichrom TEVA). Todas las muestras fueron medidas por AS para determinar el rendimiento radioquímico del proceso, con un tiempo de recuento de 350000 s (4 días, aproximadamente). La recuperación de Pu fue, en promedio, del 80% aproximadamente para AG1X2, e inferiores al 50% para TEVA. Debido al “bajo” rendimiento radioquímico obtenido con TEVA, se decidió no continuar con esta resina en la purificación

de Pu de las muestras orina. No obstante, durante la reevaluación de planchetas, TEVA fue empleada con algunas muestras (en el Artículo 3) para eliminar el Fe procedente de la corrosión de la plancheta. En la Figura 4.2, se indican los procedimientos involucrados en el diseño experimental para la extracción de Pu en planchetas previamente analizadas por AS [36, 67, 139].

La posibilidad de reevaluar Pu en planchetas previamente medidas por AS, fue el otro objetivo principal en esta Tesis Doctoral. Para ello fue necesario desarrollar un método de extracción del Pu contenido en la plancheta. Los mejores resultados se consiguieron empleando HNO_3 5% v/v durante toda la noche, evitando así la extracción agresiva de Fe, elemento que afecta directamente a los niveles de fondo instrumental. El fondo instrumental tiene su origen en la propia fuente del AMS [163], donde la eficiencia de ionización de los átomos de Pu que son extraídos de las muestras durante el proceso de *sputtering* (y que no se emiten como PuO^+ , que es el anión que analizamos en la zona de baja energía) es inferior al 1%, es decir, que aproximadamente el 99% de los átomos de Pu extraídos quedarían en la fuente, generando un fondo que afecta al resto de las medidas. Durante esta experimentación, se ha observado que cantidades superiores a 1 mg de Fe en la muestra dificultan el proceso de ionización del Pu, lo que se traduce en una menor corriente de iones de PuO^+ y por tanto aumenta el LOD (y por tanto a la AMD). Esta es la razón por la que en el primer proceso de extracción de Pu (donde se empleó HNO_3 2,5% v/v y HCl 2,5% v/v durante toda la noche), algunos extractos se diluyeron al menos seis veces, para minimizar la concentración de Fe en el análisis por AMS.

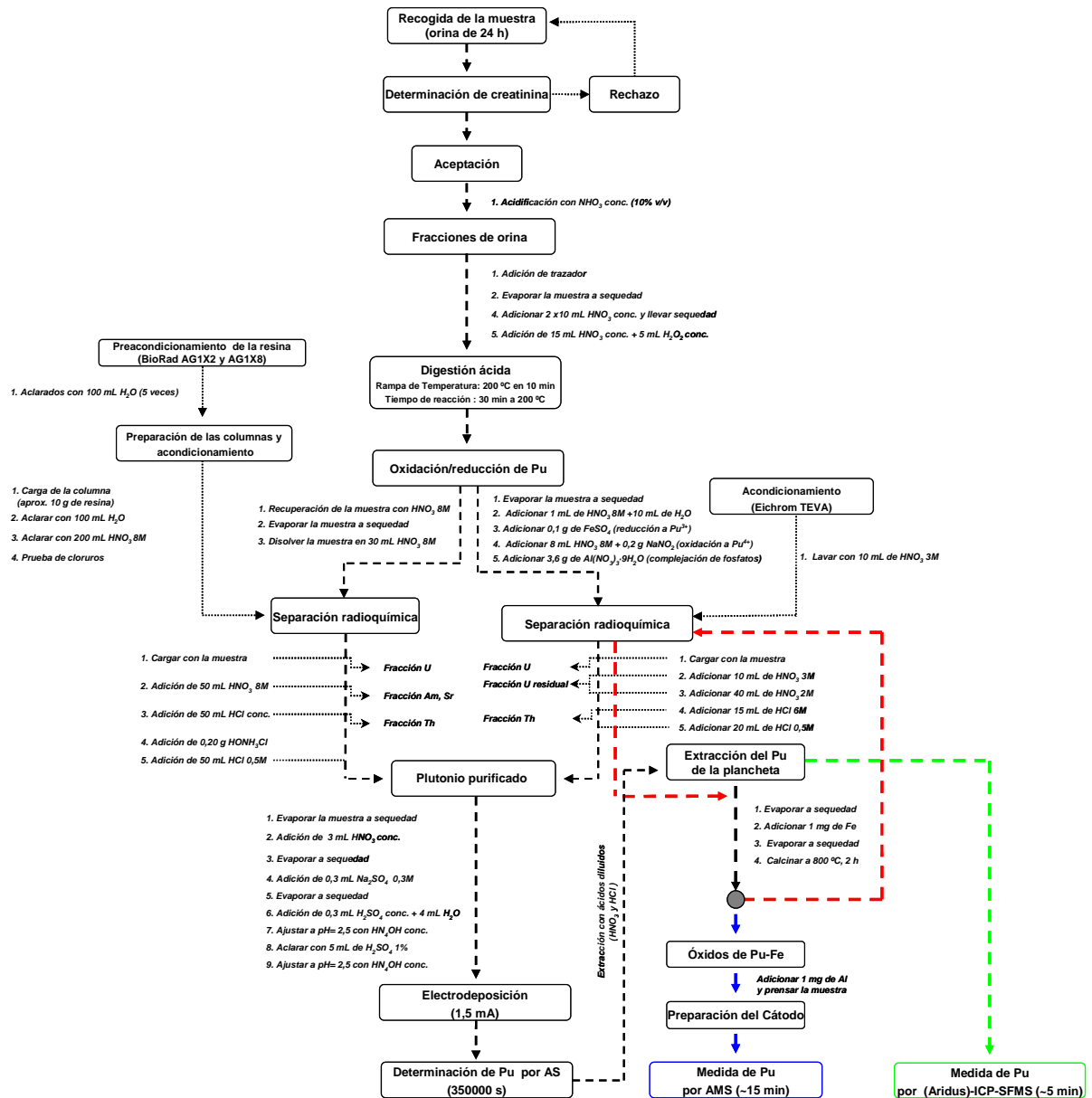


Figura 4.2 Diseño experimental para la cuantificación de ^{239}Pu en muestras de orina y reevaluación de planchetas usando AMS y ICP-SFMS. Los procesos completos se describen en el Capítulo 3. Parte A.

La metodología propuesta en esta memoria de Tesis Doctoral para la cuantificación de ^{239}Pu en muestras de orina con fines dosimétricos, mediante AMS, mejora los valores de la AMD para ^{239}Pu en dos órdenes de magnitud con respecto a la AMD por AS. Asimismo, se confirma de nuevo que los procesos de evaporación y digestión simplifican la parte preparativa de la muestra, lo que se traduce en una reducción drástica del tiempo de análisis.

Los resultados obtenidos en los Artículos aportados en esta Tesis Doctoral, demuestran que la metodología propuesta representa una alternativa para las medidas de ^{239}Pu en muestras de orina humana cuando los niveles de actividad no son cuantificables por los métodos “clásicos” basados en AS [42]. Asimismo, queda demostrada la viabilidad de la aplicación de AMS en el análisis de ^{239}Pu en este tipo de excretas, obteniéndose medidas con una elevada precisión y exactitud en el análisis isotópico de Pu en muestras con niveles de concentración del orden de sub-fg/muestra, por lo que la aplicación de AMS sería factible para el control dosimétrico del personal profesionalmente expuesto a Pu (y, en situaciones de emergencia, a la población).

Medidas de ^{239}Pu en orina por ICP-SFMS

Los niveles de sensibilidad de los instrumentos de ICP-MS en análisis multielemental son cada vez mayores, y su aplicación en el campo de la protección radiológica va adquiriendo progresivamente más relevancia, especialmente en determinadas aplicaciones medioambientales, en el control y evaluación de la dosis incorporada de U en trabajadores profesionalmente expuestos, así como en algunas tareas de vigilancia radiológica del ambiente de trabajo. Las mejoras en los sistemas de introducción de la muestra y en el diseño de los instrumentos de ICP-MS en los últimos años han hecho factible poder alcanzar LOD cada vez más bajos. En el caso de ICP-SFMS, la elevada sensibilidad, precisión y exactitud en las medidas de Pu permiten el análisis de diversos radionucleidos utilizando mínimas cantidades de muestra (por ejemplo, para el análisis de isótopos de U, Th, Pu, Am, etc) [118]. Estudios de investigación realizados por otros grupos han reportado que el LOD para ^{239}Pu en muestras de orina utilizando ICP-SFMS puede llegar a órdenes de poco fg/muestra. Sin embargo, la evaluación dosimétrica rutinaria del personal profesionalmente expuesto, así como el control de la exposición del público al Pu, aplicando esta técnica presenta algunas dificultades, tales como la extremadamente baja tasa diaria de excreción de Pu en orina, o los efectos de matriz (supresión de la intensidad de la señal del analito) que se manifiestan cuando se realiza el análisis directo de Pu en orina, y que son debidos fundamentalmente al elevado contenido de sólidos disueltos en la muestra. En

consecuencia, para conseguir una sensibilidad razonable en la determinación de Pu en muestras biológicas, habitualmente es necesario concentrar y purificar el analito previamente su análisis por ICP-SFMS. En el Capítulo 1 se realiza una descripción de los aspectos más relevantes de la química del Pu y su influencia en el desarrollo de la metodología aplicable al tratamiento de las muestras (preconcentración y purificación). En el Capítulo 2, se abordan los aspectos más relevantes del análisis cuantitativo de Pu con las diferentes técnicas aquí empleadas. En este capítulo se revisan las principales interferencias que surgen a la hora de analizar Pu utilizando la técnica de ICP-SFMS y las estrategias que pueden aplicarse para su resolución.

En este trabajo de investigación se desarrollaron tres nuevos métodos analíticos para medir de ^{239}Pu en muestras de orina. En el primer método, se optimizaron las condiciones instrumentales de operación para el estudio de la influencia de la matriz de la orina en la señal de ^{239}Pu (análisis directo). Los resultados obtenidos se comunicaron en la 18th IMSC celebrada en Bremen (Alemania) en agosto de 2009 [39]. En el segundo método, el objetivo fue la cuantificación del contenido de Pu en planchetas previamente medidas por AS, que en esta Tesis se ha denominado “reevaluación de planchetas”. La metodología desarrollada y los resultados se incluyen en el Artículo 3. El tercer método es una continuación del segundo, que consistió en acoplar el desolvatador Aridus al ICP-SFMS para mejorar el LOD y, por tanto, la AMD de Pu en la reevaluación de planchetas. Finalmente, se compararon los resultados obtenidos con las tres técnicas: AS, AMS, (Aridus)-ICP-SFMS (Artículos 3 y 4).

Con respecto a las investigaciones sobre el efecto matriz en la medida directa de Pu en orina por ICP-SFMS, el método analítico desarrollado ha permitido reducir el tiempo de preparación de la muestra a tal solo 5 h, con valores de AMD para ^{239}Pu (en las fracciones de orina de 10 y 25 mL) muy similares a los alcanzados con AS. Aunque actualmente se están realizando investigaciones encaminadas a mejorar determinados aspectos experimentales (mediante dilución de la muestra, se trata de reducir el elevado contenido de sales, que son los causantes de la formación depósitos en los conos del ICP-SFMS y, por tanto, de problemas tales como obstrucción de la entrada de muestra al espectrómetro, o efecto memoria) en principio, los resultados

preliminares indican que el método propuesto podría ser idóneo para la cuantificación rápida de ^{239}Pu en orina humana, lo que resultaría especialmente útil en situaciones de emergencia.

En el Artículo 3 se analizaron las principales ventajas que ofrece ICP-SFMS frente a AS y AMS en cuantificación y reevaluación de ^{239}Pu en muestra de orina, y que se resumen a continuación:

1. Es posible realizar una extracción agresiva de Pu en la plancheta con ácidos fuertes diluidos (HNO_3/HCl), sin que el Fe procedente de la corrosión de la plancheta afecte a la cuantificación del Pu extraído, como sucedió en las medidas con AMS (ver Artículo 2).
2. Al contrario que con AMS, se puede determinar sin dificultad el rendimiento radioquímico de la purificación de Pu, reduciendo además el tiempo necesario para el análisis respecto a AS (Artículo 3), y con una sensibilidad muy superior.
3. Análogamente a lo indicado en el punto anterior, ICP-SFMS permite determinar el rendimiento del proceso de extracción de Pu en las planchetas, con las ventajas ya mencionadas sobre AS y AMS.
4. La AMD para ^{239}Pu y ^{242}Pu obtenida con ICP-SFMS fue, aproximadamente, de 23 fg/muestra y 100 fg/muestra, respectivamente; y los LOD de ^{239}Pu y ^{242}Pu fueron de, aproximadamente, 5 fg/muestra y 7 fg/muestra, respectivamente. Estos valores son rotundamente mejores que los que se pueden alcanzar con la técnica de AS.

En el Artículo 4 se continuaron las investigaciones descritas en el Artículo 3, desarrollándose un tercer método analítico para cuantificar ^{239}Pu mejorando el LOD y AMD de Pu en orina, gracias al acoplamiento de un desolvatador Aridus al ICP-SFMS, hasta en un orden de magnitud. Así, los valores de AMD obtenidos en muestras de orina de 24 h fueron, aproximadamente, 3 fg/muestra para ^{239}Pu y 11 fg/muestra para ^{242}Pu ; y los valores del LOD fueron, aproximadamente, 1 fg/muestra para ^{239}Pu y 5 fg/muestra para ^{242}Pu .

En la Figura 4.3 se han representado los resultados más relevantes, comparando las diferentes técnicas empleadas, tanto en la cuantificación de ^{239}Pu como en la reevaluación de planchetas.

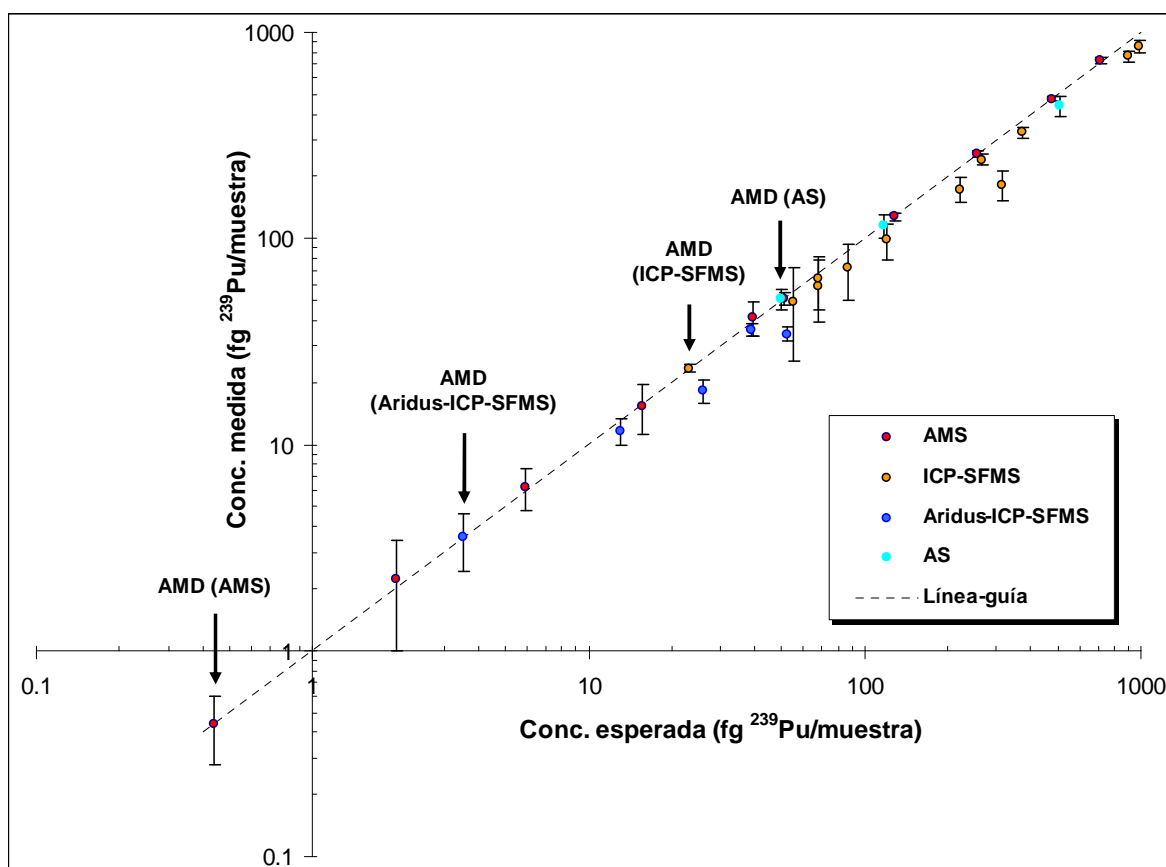


Figura 4.3 Representación de los resultados más relevantes obtenidos durante estas investigaciones usando AS, ICP-SFMS, Aridus-ICP-SFMS y AMS. En la figura se aprecia claramente la gran mejora aportada por estas investigaciones frente a los métodos clásicos basados en AS.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

A continuación se resumen las conclusiones más relevantes de esta Tesis Doctoral.

En infraestructura y equipos:

- ✓ Creación de un laboratorio de preparación de muestras y de una sala limpia para el análisis de actínidos en excretas por Espectrometría de Masas de Alta Resolución.
- ✓ Instalación y puesta a punto de los equipos de medida: AS, (Aridus)-ICP-SFMS. Así como de diverso material en los laboratorios de preparación de muestras y sala limpia (vitrinas de gases con sistema lavador y neutralizador de gases, digestor de microondas, mufla de microondas, destilador de ácidos, sistemas de purificación de agua, etc.).

En el tratamiento de las muestras de orina humana para el análisis de ^{239}Pu :

- ✓ Desarrollo y verificación de un método nuevo para el tratamiento de la muestra de orina, más rápido que los utilizados actualmente, basado en la evaporación de fracciones de orina y seguido de una digestión ácida asistida por microondas, previo a la purificación radioquímica.
- ✓ Las mejoras en el tratamiento de la muestra por evaporación han permitido la optimización del volumen necesario de orina a tratar, reduciéndolo considerablemente, normalizando los resultados al volumen total excretado según el contenido de creatinina de la muestra. Todo ello conlleva una drástica reducción del tiempo requerido para el tratamiento de la muestra.
- ✓ El proceso de evaporación es aplicable al análisis de rutina para el control dosimétrico del personal profesionalmente expuesto, y

constituye una opción excelente en situaciones de emergencia, que requieren respuestas rápidas y fiables

- ✓ Se ha propuesto la posibilidad de realizar una única recogida de orina (primera micción de la mañana), como una alternativa para reducir el tiempo necesario de análisis de Pu. De este modo, se minimiza el riesgo de contaminación de la muestra, que existe cuando se recogen muestras de 24 horas, debido a que éstas se recogen (al menos parcialmente) en el lugar de trabajo, posiblemente contaminado
- ✓ Con respecto a la purificación radioquímica de Pu, se ha observado que los mejores resultados se obtuvieron con la resina BioRad AG1X2.

En el desarrollo de métodos analíticos alternativos para medir ^{239}Pu en orina humana, mediante la aplicación de técnicas de espectrometría de masas: (Aridus)-ICP-SFMS y AMS.

- ✓ Se ha puesto a punto un nuevo método analítico, ultrasensible, para medir ^{239}Pu en muestras de orina (sub-fg/muestra) usando AMS. Se ha demostrado que AMS es una técnica robusta y extremadamente sensible para este fin.
- ✓ Se ha realizado una investigación para explorar las posibilidades de ICP-SFMS en el análisis directo de Pu en orina. Se estudió la contribución del efecto matriz, determinándose el volumen óptimo de muestra a analizar. Hasta el momento, los valores de AMD son similares a los que se obtienen con AS, con la ventaja de que la incertidumbre asociada a la medida con ICP-SFMS es inferior a la de AS y, además, la determinación es sensiblemente más rápida. Actualmente se están investigando mejoras del método para reducir la AMD.

- ✓ Se ha puesto a punto un método analítico para cuantificar Pu en muestras de orina, así como para reevaluar planchetas, mediante ICP-SFMS. La AMD es del orden de 23 fg de ^{239}Pu /muestra de orina.
- ✓ Para mejorar los valores de AMD del apartado anterior, se ha puesto a punto el acoplamiento Aridus-ICP-SFMS. La AMD en este caso es de 3 fg de ^{239}Pu /muestra de orina, demostrando ser una técnica versátil, robusta y extremadamente sensible para cuantificación de ^{239}Pu , tanto en muestras de orina como en la reevaluación de planchetas.
- ✓ Todos los métodos analíticos desarrollados para la cuantificación de ^{239}Pu en muestras de orina y en la reevaluación de planchetas, basados en MS, han demostrado ser mucho más rápidos y sensibles que los métodos clásicos estándar basados en AS.
- ✓ Se ha demostrado que la aplicación de (Aridus)-ICP-SFMS y AMS en la cuantificación de ^{239}Pu en muestras de orina es viable, siendo adecuadas para su empleo en dosimetría. Asimismo, estas técnicas constituyen un método alternativo y muy eficaz para la reevaluación de planchetas con contenido de ^{239}Pu cercano o inferior al LOD de AS. Este aspecto es esencial cuando se requiere discriminar falsos positivos (o falsos negativos) en trabajadores profesionalmente expuestos a radiaciones ionizantes.

Comparación de los resultados analíticos por MS con los resultados obtenidos en réplicas de orina mediante AS: límites de detección y actividad mínima detectable de ^{239}Pu

MÉTODO		LOD		MDA	
		^{239}Pu	^{242}Pu	^{239}Pu	^{242}Pu
AS	$\mu\text{Bq/ muestra}$	44,8 \pm 5,0	56,8 \pm 11,9	117,3 \pm 12,8	134,5 \pm 18,7
	fg/muestra	19,4 \pm 2,2	387,6 \pm 81,2	50,9 \pm 5,6	918,1 \pm 127,8
ICP-SFMS	$\mu\text{Bq/ muestra}$	11,23 \pm 0,21	0,99 \pm 0,05	54,04 \pm 2,17	14,49 \pm 1,05
	fg/muestra	4,87 \pm 0,09	6,89 \pm 0,34	23,43 \pm 0,94	100,43 \pm 7,29
Aridus-ICP-SFMS	$\mu\text{Bq/ muestra}$	1,86 \pm 0,21	1,86 \pm 0,09	7,45 \pm 0,28	12,22 \pm 0,53
	fg/muestra	0,81 \pm 0,03	0,80 \pm 0,04	3,23 \pm 0,12	5,30 \pm 0,23
AMS	$\mu\text{Bq/ muestra}$	0,57 \pm 0,23	0,150 \pm 0,059	1,25 \pm 0,46	0,32 \pm 0,12
	fg/muestra	0,20 \pm 0,08	0,830 \pm 0,033	0,44 \pm 0,16	1,76 \pm 0,66

Consideraciones finales

- ✓ Los avances obtenidos resultan muy relevantes desde un punto de vista de la Dosimetría Interna, ya que siendo en algunos aspectos pioneros a nivel internacional es también la primera vez que se emplea un (Aridus)-ICP-SFMS y AMS en España en este campo.
- ✓ Los procesos propuestos en esta Tesis Doctoral satisfacen los requisitos necesarios para el bioensayo de Pu, y son adecuados para la evaluación y control dosimétrico del personal profesionalmente expuesto.
- ✓ Los métodos desarrollados en esta Tesis Doctoral constituyen una valiosa herramienta de trabajo para el Servicio de Dosimetría Personal del CIEMAT, en el establecimiento de protocolos para la cuantificación de ^{239}Pu tanto en condiciones normales como de emergencia.

CAPÍTULO 6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Consejo de Seguridad Nuclear. *La protección radiológica en la industria, la agricultura, la docencia o la investigación*. CSN, SDB-04.04, 2004.
- [2] International Commission on Radiological Protection. *Report of Committee II on Internal Exposure of Workers*. ICRP Publication 78. Oxford: Pergamon Press 1997.
- [3] Consejo de Seguridad Nuclear. *Reglamento sobre Instalaciones Nucleares y Radiactivas*. NOR-01.02 Carpeta de legislación, II. Normativa técnica. Modificado por el Real Decreto 35/2008, de 18 de enero.
- [4] Real Decreto 783/2001, de 6 de julio. *Reglamento sobre Protección Sanitaria contra Radiaciones Ionizantes*.
- [5] Sumner D. *Low-level radiation-How dangerous is it?*. Medicine, Conflict and Survival. 6(2),112-119, (1990).
- [6] Arias F.C. *Regulating radiological protection and the role of health authorities*. Pan. Am. J. Public Health. 20(2/3), 188-197 (2006).
- [7] Robert N., Cherry Jr., Sydney W., Gordon M.L and Arthur C.U. *Capítulo 48: Radiaciones Ionizantes*. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. 48.1-48.34, Tercera Edición, 2001.
- [8] NAS-NRC 2006. *Health Risks from Exposure to Low Levels of Ionizing Radiation, BEIR V*. Report of the Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiation, 2006.
- [9] Nakamura N. *Genetic Effects of Radiation in Atomic-bomb Survivors and Their Children: Past, Present and Future*. J. Radiat Res. 47(Suppl), B67-B73 (2006).
- [10] Imanaka T. *Casualties and radiation dosimetry of the atomic bombings on Hiroshima and Nagasaki*. Radiation Risk. Estimates in Normal and Emergency Situations, 149-156 (2006).
- [11] Hall J.E., Phil D and Sc. D. *Radiation and Life*. Bull. N.Y. Acad. Med. 65(40), 430-438 (1989).
- [12] Shimizu Y., Kodama K., Nishi N., Kasagi F., Suyama A., Soda M., Grant J.E., Sugiyama H., Sakata R., Moriwaki H., Hayashi M., Konda M and Shore E.R., Radiation exposure and circulatory disease risk: Hiroshima

- and Nagasaki atomic bomb survivor data, 1950-2003. B.M.J. 2010;340:b5349 (doi:10.1136/bmj.b5349).
- [13] Cardis E., Vrijheid M., Blettner M., Gilbert E., Hakama M., Hill C., Howe G., Kaldor J., Muirhead C.R., Schubauer-Berigan M., Yoshimura T., Bermann F., Cowper G., Fix J., Hacker C., Heinmiller B., Marshall M., Thierry-Chef I., Utterback D., Ahn Y.O., Amoros E., Ashmore P., Auvinen, A., Bae J.M., Bernar J., Biau A., Combalot E., Deboodt P., Sacristan A.D., Eklof M., Engels H., Engholm G., Gulis G., Habib R., Holan K., Hyvonen H., Kerekes A., Kurtinaitis J., Malker H., Martuzzi M., Mastauskas A., Monnet A., Moser M., Pearce M.S., Richardson D.B., Rodriguez-Artalejo F., Rogel A., Tardy H., Telle-Lamberton M., Turai I., Usel M., and Veress K. *Risk of cancer after low doses of ionising radiation: retrospective cohort study in 15 countries*. B.M.J. 332(7508), 77-80B, (2005).
- [14] Ley 15/1980 de 22 de abril, de Creación del Consejo de Seguridad Nuclear, reformada por la Ley 33/2007, de 7 de noviembre.
- [15] Levine C.A and [Seaborg](#) G.T. *The Occurrence of Plutonium in Nature*. J. Amer. Chem. Soc. 73 (7), 3278-3283 (1951).
- [16] Mahara Y and Kudo A. *Plutonium released by the Nagasaki a-bomb - mobility in the environment*. Appl. Radiat. Isot. 46 (11), 1191-1201 (1995).
- [17] Balonov M.I. *The Chernobyl Forum: major findings and recommendations*. J. Environ. Radioac. 96 (1-3), 6-12 (2007).
- [18] Oughton D.H, Skipperud L., Fifield L.K., Cresswell R.G., Salbu B and Day P. *Accelerator mass spectrometry measurement of $^{240}\text{Pu}/^{239}\text{Pu}$ isotope ratios in Novaya Zemlya and Kara Sea sediments*. Appl. Radiat. Isot. 61 (2-3), 249–253. (2004).
- [19] Donard O.F.X., Bruneau F., Moldovan M., Garraud H., Epov V.N and Boust D. *Multi-isotopic determination of plutonium (^{239}Pu , ^{240}Pu , ^{241}Pu and ^{242}Pu) in marine sediments using sector-field inductively coupled plasma mass spectrometry*. Anal. Chim. Acta. 587 (2), 170–179 (2007).
- [20] Choppin G.R. *Actinide science: fundamental and environmental aspects*, J. Nucl. Radiochem. Sci. 6 (1), 1–5. (2005).

- [21] Sholkovitz E.R. *The geochemistry of plutonium in fresh and marine water environments*, Earth-Sci. Rev. 19 (2), 95–161 (1983).
- [22] Baxter M.S., Fowler S.W and Povinec P.P. *Observations on plutonium in the oceans*, J. Appl. Rad. Isot. 46 (11), 1213–1224 (1995).
- [23] David R. Lide (ed.) Norman E. Holden in *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 85th Edition*, online version. CRC Press. Boca Raton, Florida, Section 11 (2005).
- [24] Talbot R.J., Newton D and Warner A.J. *Metabolism of injected plutonium in 2 healthy-men*. Health Phys. 65 (1), 41-46 (1993).
- [25] Talbot R.J., Newton D and Dmitriev S.N. *Sex-related differences in the human metabolism of plutonium*. Radiat. Prot. Dosim. 71(2), 107-121 (1997).
- [26] Harrison J.D. *The Gastrointestinal Absorption of Plutonium, Americium and Curium*. Radiat. Prot. Dosim. 5(1), 19-35 (1983).
- [27] Koshurnikova N.A., Bolotnikova M.G., Ilyin L.A., Keirim-Markus I.B., Menshikh Z.S., Okatenko P.V., Romanov S.A., Tsvetkov V.I and Shilnikova N.S. *Lung cancer risk due to exposure to incorporated plutonium*. Radiat. Res. 149 (4), 366-371 (1998).
- [28] Milykova M.S., Gusev N.I., Sentyurin I.G and Sklyarenko I.S. *Analytical Chemistry of Plutonium*, Ann Arbor-Humphery Science Publishers, Ann Arbor, London. (1969).
- [29] Katz J.J, Seaborg G.T and Morss L.R.. *The Chemistry of the Actinide Elements*, Second Edition, Chapman & Hall, New York. 1-2, (1986).
- [30] Harvey B.G., Heal H.G., Maddock A.G and Rowley E.L.(Miss). *The chemistry of Plutonium*. J. Chem. Soc (Resumed). 1010-1021 (1947).
- [31] Cleveland J.M. *The Chemistry of Plutonium*. Am. Nucl. Soc. La Grange Park, IL. 1979, p 651.
- [32] Langmuir D. *Aqueous Environmental Geochemistry*, Prentice Hall, New Jersey. 1997. (Figure 13.30 and Figure 13.32). ISBN: 0-02-367412-1.
- [33] Choppin, G.R., and Morse J.W. *Laboratory Studies of Actinides in Marine Systems. In Environmental Research on Actinide Elements*. Pinder J.E, Alberts J.J., McLead K.W and Schreckhise R.G. (Eds.), CONF-841142,

- Office of Scientific and Technical Information, U. S. Department of Energy, Washington, D. C. 1987, pp. 49-72.
- [34] Nitsche H., Lee H.S.C and Gatti R.C. *Determination of Pu oxidation states at traces level pertinent to nuclear waste disposal*. Lawrence Berkeley laboratory Report LBL-23158 in 1987.
- [35] Guillaumont R and Adloff J.P. *Behavior of environmental pollution at very low concentration*. Radiochim. Acta. 58/59, 53-60 (1992).
- [36] Robredo L.M., Navarro T and Sierra I. *Indirect monitoring of internal exposure in the decommissioning of a nuclear power plant in Spain*. J. Appl. Radiat. Isot. 53 (1-2), 345-350 (2000).
- [37] Zoriy M.V., Pickhardt C., Ostapczuk P., Hille R and Becker J.S. *Determination of Pu in urine at ultratrace level by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry*. Int. J. Mass. Spectrom. 232 (3), 217-224 (2004).
- [38] Hernández-Mendoza H., Yllera A., Chamizo E., García-León M., Navarro T and Delgado A. *Determinación de Plutonio en orina*. XVII Congreso Nacional de SEFM and XII Congreso Nacional de SEPR in Alicante, Spain. June, 2009.
- [39] Hernández-Mendoza H., Chamizo E., Yllera A., García-León M and Delgado A. *Measurement of ^{239}Pu in urine sample sat ultra-trace levels using a 1 MV compact AMS system*. 11th International conference on accelerator mass spectrometry. 2008, September 14-19, (Talk present in Rome).
- [40] Morgenstern A., Apostolidis C., Carlos-Marquez R., Mayer K and Molinet R. *Single-column extraction chromatographic separation of U, Pu, Np and Am*. Radiochim Acta. 2002, 90, 81-85.
- [41] Weiss H.V and Shipman W.H. *Radiochemical Determination of Plutonium in urine*. Anal. Chem.; 1961; 33(1), 37 – 39.
- [42] Harduin J.C., Peleau B and Levavasseur D. *Analytical determination of actinides in biological samples*. Radioprotection. 31 (2), 229-245 (1996).
- [43] Barrero Moreno J.M., Betti M and García Alonso J.I. *Determination of Neptunium and Plutonium in the presence of high concentrations of*

- uranium by ion chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 12, 355-361 (1997).
- [44] Giardina L., Adreocci L., Bazzarri S and Mancini L. *A comparison of different radiochemical methods applicable for the determination of plutonium in urine via alpha spectrometry.* *Czech. J. Phys.* 56 (Suppl. D) D265-D270 (2006).
- [45] Hou X and Roos P. *Critical comparison of radiometric and mass spectrometric methods for the determination of radionuclides in environmental, biological and nuclear waste samples.* *Anal. Chim. Acta.* 608, 105-139, (2008).
- [46] Hang W., Mahan C., Zhu L and Gonzales E. *Evaluation of chelation concentration and cation separation of actinides at ultra-trace levels in urine matrix.* *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 263 (2), 467-475 (2005)
- [47] Perna L. *Ph. D. Thesis*, Universidad Politécnica de Catalunya, Departamento de Ingeniería Química, (2003).
- [48] Nygren U. *Ph. D. Thesis*, Lulea University of Technology, Department of Chemical Engineering and Geosciences, (2006).
- [49] Salminen S. *Ph. D. Thesis*, Faculty of Science of the University of Helsinki, Department of Chemistry, (2009).
- [50] Zoriy M. *Ph. D. Thesis*, Geschäftsbereich Sicherheit und Strahlenschutz, Zentratabteilung für Chemische Analysen, (2005)
- [51] Kuwabara J and Noguchi H. *Development of rapid bioassay method for plutonium.* *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 252 (2), 273-276 (2002).
- [52] Hurtgen C and Cossonnet C. *A survey on uncertainty in bioassay measurements carried out within the ominex project.* *Radiat. Prot. Dosim.* 105 (1-4), 375-378 (2003).
- [53] Lariviere D., Cumming T.A., Kiser S., Li C and Cornett R.J. *Automated flow injection system using extraction chromatography for the determination of plutonium in urine by inductively coupled plasma mass spectrometry.* *J. Anal. At. Spectrom.* 23, 352-360 (2008).
- [54] Pietrzak R., Doty R., Finfrock C., Moorthy A., Kaplan E and Thind K. *²³⁹Pu in urine by ICP-MS and FTA methods and their application to occupational exposure measurements.* 44th Annual Conference on

- Bioassay, Analytical, and Environmental Radiochemistry. Albuquerque, New Mexico. November 15-20, (1998). <http://www.lanl.gov/BAER-Conference/BAERCon-44p049.pdf>
- [55] Lee S.H., Gastaud J., La Rosa J.J., Wee Kwong L.L., Povinec P.P., Wyse E., Fifield L.K., Hausladen P.A., Di Tada L.M and Santos G. M. *Analysis of plutonium isotopes in marine samples by radiometric, ICP-MS and AMS techniques*. J. Radioanal. Nucl. Chem. 248(3), 757-764 (2001).
 - [56] Agarande M., Benzoubir S., Neiva-Marques A.M and Bouisset P. *Sector field inductively coupled plasma mass spectrometry, another tool for plutonium isotopes and plutonium isotope ratios determination in environmental matrices*. J. Environ. Radioact, 72, 169–176 (2004).
 - [57] Michel H., Ketterer M. E and Barci-Funel G. *ICP-MS analysis of plutonium activities and $^{240}\text{Pu}/^{239}\text{Pu}$ ratio in alpha spectrometry planchet deposits*. J. Radioanal. Nucl. Chem. 273(2), 485-490 (2007).
 - [58] Ketterer M.E., Szechenyi S.C. *Determination of plutonium and other transuranic elements by inductively coupled plasma mass spectrometry: A historical perspective and new frontiers in the environmental sciences*. Spectrochim. Acta Part B 63, 719-737 (2008).
 - [59] Bill G., Ting R., Pappas R.S and Paschal D.C. *Rapid analysis for plutonium-239 in urine by magnetic sector inductively coupled plasma-mass spectrometry using Aridus desolvation introduction system*. J. Anal. At. Spectrom. 18, 795–797 (2003).
 - [60] Igarashi Y., Kim C.K., Takaku Y., Shiraishi K., Yamamoto M and Ikeda N. *Application of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry to the Measurement of Long-Lived Radionuclides in Environmental Samples A Review*. Anal. Sci. 6(2), 157-164, (1990).
 - [61] Epov V.N., Benkhedda K., Cornett R.J and Evans R.D. *Rapid determination of plutonium in urine using flow injection on-line preconcentration and inductively coupled plasma mass spectrometry*. J. Anal. At. Spectrom. 20 (5), 424-430 (2005).
 - [62] Pappas R.S., Ting B.G and Paschal D.C. *Rapid analysis for plutonium-239 in 1 ml of urine by magnetic sector inductively coupled plasma mass*

- spectrometry with a desolvating introduction system. Anal. At. Spectrom.* 19 (6), 762-766 (2004).
- [63] Baglan N., Cossonnet C., Pitet P., Cavadore D., Exmelin L and Berard P. *On the use of ICP-MS for measuring plutonium in urine. J. Radioanal. Nucl. Chem.* 243 (2), 397-401 (2000).
- [64] Elliot N. L., Bickel G.A., Linauskas S.H and Paterson L.M. *Determination of femtogram quantities of Pu-239 and Pu-240 in bioassay samples by thermal ionization mass spectrometry. J. Radioanal. Nucl. Chem.* 267 (3), 637-650. 2006
- [65] LaMont S.P., Shick C.R., Cable-Dunlap P., Fauth D.J and LaBone T.R. *Plutonium determination in bioassay samples using radiochemical thermal ionization mass spectrometry. , J. Radioanal. Nucl. Chem.* 263(2), 477-481 (2005).
- [66] Inkret W.C., Efurd D.W., Millar G., Rokop D. J and Benjamin T.M. *Applications of thermal ionization mass spectrometry to the detection of Pu-239 and Pu-240 intakes, Int. J. Mass Spectrom.* 178 (1-2), 113-120 (1998).
- [67] Hernández-Mendoza H., Chamizo E., Yllera A., García-León M and Delgado A. *Measurement of ²³⁹Pu in urine samples at ultra-trace levels using a 1 MV compact AMS system. Nucl. Instr. and Meth. B.* 268, 1331-1333, (2009).
- [68] Priest N.D., Pich G.D., Fifield L. K and Cresswell R. G. *Accelerator mass spectrometry for the detection of ultra-low levels of plutonium in urine, including that excreted after the ingestion of Irish Sea sediments. Radiat. Res.* 152 (6), S16-S18 (1999).
- [69] Moorthy A.R., Schopfer C.J and Banerjee S. *Plutonium from atmospheric weapons testing - fission-track analysis of urine samples. Anal. Chem.* 60 (14), A857-A860 (1988).
- [70] Bolotov B.M., Gaitinov A.C., Polyakov A.I., Chuburkov Y.T., Perelygin V.P., Drobinina T.P., Kravets L.I., Timokhin S.N., Mietelski J.M., Szegłowski Z., Petrova R.I and Ruskov T. *On the determination of Pu-239 and Am-241 content in human tissues. Radiat. Meas.* 36 (1-6), 541-545 (2003).

- [71] Barss N. M., Brodsky A and Jackson E. *Estimating population doses from plutonium from fission track analysis and autopsy data*. Presented at the annual meeting of the Health Physics Society. Health Phys. 80(6), Supp, 2001.
- [72] Inn K.G.W., McCurdy D., Kuruvilla L., Barss N.M., Pietrzak R., Kaplan E., Inkret W, Efurd W., Rokop D., Lewis D., Gautier P and Bell R.T. *Intercomparison study of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Thermal Ionization Mass Spectrometry and Fission Track Analysis of μBq quantities of ^{239}Pu in synthetic urine*. J. Radioanal. Nucl. Chem. 249 (1), 121-131 (2001).
- [73] Sun L.C., Moorthy A.R., Kaplan E., Baum J.W and Meinhold C.B. *Assessment of plutonium exposures in Rongelap and Utirik populations by fission-track analysis of urine*. Appl. Rad. Isot. 46 (11), 1259-1269 (1995).
- [74] Sawant P.D., Prabhu S., Kalsi P.C and Pendharkar K.A. *Estimation of trace levels of plutonium in urine samples by fission track technique*. J. Radioanal. Nucl. Chem. 279 (1), 179-183 (2009).
- [75] Milykova M.S., Gusev N.I., Sentyurin I.G and Sklyarenko I.S. *Analytical Chemistry of Plutonium*, Ann Arbor-Humphery Science Publishers, Ann Arbor, London. (1969).
- [76] Croudace I.W., Warwick P.E and Greenwood R.C. *A novel approach for the rapid decomposition of ActinideTM resin and its application to measurement of uranium and plutonium in natural waters*. Anal. Chem. Acta. 577, 111-118 (2006).
- [77] Li CS., Lariviere D, Kiser S., Moodie G., Falcomer R., Elliot N., Burchart L., Paterson L., Epov V., Evans D., Pappas S., Smith J and Cornett J. *Method intercomparison for the analysis of Pu-239/240 in human urine*. J. Anal. At. Spectrom. 23 (4), 521-526 (2008).
- [78] Maxwell III S.L *Rapid analysis of emergency urine and waster samples*. J. Radioanal. Nucl. Chem. 275 (3), 497-502 (2008).
- [79] Efurd D.W., Steiner R.E., LaMont S.P and Lewis D. *History of the plutonium bioassay program at the Los Alamos National Laboratory, 1944-2006*. J. Radioanal. Nucl. Chem. 276 (2), 499-504 (2008).

- [80] Jerome S.M., Smith D., Woods M.J and Woods S.A. *Metrology of plutonium for environmental measurements*. Appl. Radiat. Isot. 46 (11), 1145-1150 (1995).
- [81] Wrenn M.E., Singh N.P and Xue Y.H. *Urinary-excretion of pu-239 by the general-population - measurement technique and results*. Radiat. Prot. Dosim. 53 (1-4), 81-84 (1994).
- [82] Johansson L and Holm E. *Determination of trace-amounts Pu-239 using fission track analysis*. Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. 376 (2), 242-247 (1996).
- [83] Dempster A.J. *Positive Ray Analysis*. Phys. Rev. 11, 316-325 (1918).
- [84] Heumann K.G., Eisenhut S., Gallus S., Hebeda E.H., Nusko R., Vengosh A and Walczyk T. *Recent developments in thermal ionization mass spectrometric techniques for isotope analysis. A review*. Analyst. 120, 1291-1299 (1995).
- [85] Götz A and Heumann K. *Iron isotope ratio measurements with the thermal ionization technique using a compact quadrupole mass spectrometer*. Int. J. Mass. Ion Processes. 83, 319-330 (1998).
- [86] Robinson K.A and Robinson J.F (2004). *Análisis Instrumental*. Pearson Educación, S.A., Madrid, (capítulo 12). ISBN: 84-205-2988-5.
- [87] <http://itu.jrc.ec.europa.eu/typo3temp/c7f2952cee.gif>.
- [88] Becker J.S. *Mass spectrometry of long-lived radionuclides*. Spectrochim. Acta Part B. 58 (10), 1757-1784 (2003).
- [89] Barshick C.M., Duckworth D.C and Smith D.H. (eds). *Inorganic Mass Spectrometry Fundamentals and Applications (Practical Spectroscopy Series Volume 23)*. Marcel Dekker, Inc. New York, NY. ISBN: 0-8247-0243-3.
- [90] Green L.W., Elliot N.L., Miller F.C and Leppinen J.J. *Mass spectrometric determination of burnup of (U, Pu)O₂ fuel using nanogram quantities of isotopes*. J. Radioanal. Nucl. Chem. 131, 299-309 (1989).
- [91] Green L.W., Miller F.C., Sparling J.A. and Joshi S.R. *Determination of plutonium 240/239 ratios in Lake Ontario sediments*. J. Am. Soc. Mass. Spectrom. 2 (3), 240-244 (1991).

- [92] Dietz L.A, Pachuchi C.F and Lund G.A. *Internal Standard Technique for precise isotopic abundance measurements in thermal ionization mass spectrometry*. Anal. Chem. 34, 709-710 (1962).
- [93] Dodson M.H. *A theoretical study of the use of internal standards for precise isotopic analysis by surface ionization technique: Part I general first-order algebraic solutions*. J. Sci. Instrum. 40, 289-295 (1963).
- [94] Smith D.H., Walker R.L and Carter J.A. *USDOE Report ORNL/TM-9774*, 1985.
- [95] Weyer S., Anbar A.D., Gerdes A., Gordon G.W., Algeo T.J and Boyle E.A. *Natural fractionation of $^{238}\text{U}/^{235}\text{U}$* . Geochim. Cosmochim. Acta. 72 (2), 345-359 (2008).
- [96] Houk R.S., Tassel V.A., Flesch G.D., Svec H.J., Gray A.L., Taylor C.E. *Inductively Coupled Argon Plasma as an Ion Source for Mass Spectrometric Determination of Trace Elements*. Anal. Chem. 52, 2283-2289 (1980).
- [97] Becker J.S. (2007), *Inorganic Mass Spectrometry: Principles and Applications*. John Wiley & Sons Ltd.
- [98] http://www.analchem.ugent.be/AMS_Unit/res_intro.php
- [99] Lariviere D., Taylor V.F., Evans R.D and Cornett R.J. *Radionuclide determination in environmental samples by inductively coupled plasma mass spectrometry*. Spectrochimica. Acta. Part B. 61 (8) 877-904 (2006).
- [100] Becker J.S. *Recent developments in isotope analysis by advanced mass spectrometric techniques. Plenary Lecture*. J. Anal. At. Spectrom. 20, 1173-1184 (2005).
- [101] Becker J.S. *State-of-the-art and progress in precise and accurate isotope ratio measurements by ICP-MS and LA-ICP-MS. Plenary Lecture*. J. Anal. At. Spectrom. 17, 1172-1185 (2002).
- [102] Becker J.S. *Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and laser ablation ICP-MS for isotope analysis of long-lived radionuclides*. Int. J. Mass. Spectrom. 242, 183-195 (2005).
- [103] Taylor R.N., Warneke T., Milton J.A., Croudace I.W., Warwick P.E and Nesbitt R.W. *Multiple ion counting determination of plutonium isotope*

- ratios using multi-collector ICPMS. J. Anal. Atom. Spectrom. 18, 480-484 (2003).*
- [104] Finnigan TM ELEMENT XR operating Manual. Draft Version 2006.
- [105] Taylor P.D.P., de Bièvre P., Walder A.J and Entwistle A. *Validation of the analytical linearity and mass discrimination correction model exhibited by a multiple collector inductively coupled plasma mass spectrometer by means of a set of synthetic uranium isotope mixtures* J. Anal. At. Spectrom. 10, 395-398 (1995).
- [106] Quétel C., Prohaska T., Hamester M., Kerl W and Taylor P.D.P. *Examination of the performance exhibited by a single detector double focusing magnetic sector ICP-MS instrument for uranium isotope abundance ratio measurements over almost three orders of magnitude and down to pg g^{-1} concentration levels.* J. Anal. At. Spectrom. 15, 353-358 (2000).
- [107] Taylor R. N., Warneke T., Milton J. A., Croudace I. W., Warwick P. E and Nesbitt R. W. *Plutonium isotope ratio analysis at femtogram to nanogram levels by multicollector ICP-MS.* J. Anal. At. Spectrom. 16, 279-284 (2001).
- [108] Nygren U., Ramebäck H., Berglund M and Baxter D.C. *The importance of a correct dead time setting in isotope ratio mass spectrometry: Implementation of an electronically determined dead time to reduce measurement uncertainty.* Int. J. Mass. Spectrom. 257, 12-15 (2006).
- [109] Pointurier F., Hémet P and Hubert A. *Assessment of plutonium measurement in the femtogram range by ICP-MS; correction from interfering polyatomic species.* J. Anal. At. Spectrom. 23, 94-102, (2008).
- [110] Vais V., Li, C and Cornett J. *Preventing uranium hydride formation in standard uranium samples for determination of ^{239}Pu by ICP-MS.* J. Mass. Spectrom. 19, 1281-1283 (2004).
- [111] Boulyga S.F., Testa C., Desideri D and Becker J.S. *Optimisation and application of ICP-MS and alpha-spectrometry for determination of isotopic ratios of depleted uranium and plutonium in samples collected in Kosovo.* J. Mass. Spectrom. 16 (11), 1283-1289 (2001).

- [112] Boulyga S.F., Erdmann N., Funk H., Kievets M.K., Lomonosova E.M., Mansel A., Trautmann N., Yaroshevich O.I and Zhuk I.V. *Determination of isotopic composition of plutonium in hot particles of the Chernobyl area*. Radiat. Meas. 28 (1-6) 349-352 (1997).
- [113] Hang W., Zhu. L., Zhong W and Mahan C. *Separation of actinides at ultra-trace from urine matrix using chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry*. J. Mass. Spectrom. 19 (11), 966-972 (2004).
- [114] Peterson D.S and Montoya V.M. *Separation of actinides using capillary extraction chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry*. J. Chrom. Sci. 47, 545-548 (2009).
- [115] Boulyga S.F., Tibi M and Heumann K.G. *Application of isotope-dilution laser ablation ICP-MS for direct determination of Pu concentrations in soils at pg g^{-1} levels*. Anal. Bioanal. Chem. 378 (2), 342-347 (2004).
- [116] Schaumlöffel D., Giusti P. Zoriy M.V., Pickhardt C., Szpunar J., Lobinski R and Becker J. S. *Ultratrace determination of uranium and plutonium by nano-volume flow injection double-focusing sector field inductively coupled plasma mass spectrometry (nFI-ICP-SFMS)*. J. Anal. At. Spectrom. 20, 17-21, (2005).
- [117] Becker J. S., Zoriy M.V., Halicz N., Müller Chr., Segal I., Pickhardt C and Platzner T. *Environmental monitoring of plutonium at ultratrace level in natural water (Sea of Galilee-Israel) by ICP-SFMS and MC-ICP-MS*. J. Anal. At. Spectrom. 19, 1257-1261, (2004).
- [118] Becker J. S and Dietze Hans-Joachim. *Application of double-focusing sector field ICP mass spectrometry with shielded torch using different nebulizers for ultratrace and precise isotope analysis of long-lived radionuclides*. Anal. At. Spectrom. 14, 1493-1500, (1999).
- [119] Stürup S., Dahlgaard H and Nielsen S.C. *High resolution inductively coupled plasma mass spectrometry for the trace determination of plutonium isotopes and isotope ratios in environmental samples*. Anal. At. Spectrom. 13, 1321-1326, (1998).
- [120] Evans P., Elahi S., Lee K and Fairman B. *A rapid and accurate method for the determination of plutonium in food using magnetic sector ICP-MS*

- with an ultra-sonic nebuliser and ion chromatography. J. Environ. Monit.* 5, 175-179 (2003).
- [121] Wyse E.J and Fisher D.R. *Radionuclide bioassay by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)*. *Radiat. Prot. Dosim.* 55(3), 199-206, (1994).
- [122] Grinberg P., Willie S and Sturgeon R.E. *Determination of U, Th and Pu in natural wasters, biological, materials and clinical samples by ETV-ICP-MS*. *Anal. At. Spectrom.* 20, 717-723, (2005).
- [123] Fink D. *AMS-11 in Rome, 2008: Past achievements, current and future trends*. *Nucl. Instr. and Meth. B.* 268, 1334-1342 (2010).
- [124] Gove H.E, Purser K.H and Litherland A.E. *Accelerator Mass Spectrometry (AMS) 1997-1987*. *Nucl. Instr. and Meth. B.* 268, xvii-xxii (2010).
- [125] Kutschera W. *AMS and climate change*. *Nucl. Instr. and Meth. B.* 268, 701-707 (2010).
- [126] Von Reden K.F. *Future of the NOSAMS Tandetron AMS system*. *Nucl. Instr. and Meth. B.* 268, 854-857 (2010).
- [127] Hotchkis M.A.C., Child D.P and Zorko B. *Actinides AMS for safeguards and related applications*. *Nucl. Instr. and Meth. B.* 268, 1257-1260 (2010).
- [128] Wallner A. *Nuclear astrophysics and AMS- Probing nucleosynthesis in the lab*. *Nucl. Instr. and Meth. B.* 268, 1277-1282 (2010).
- [129] Synal Hans-Arno and Wacker L. *AMS measurement technique after 30 years: Possibilities and limitations of low energy systems*. *Nucl. Instr. and Meth. B.* 268, 1334-1342 (2010).
- [130] Kutschera W. *Progress in isotope analysis at ultra level by AMS*. *Int. J. Mass. Spectrom.* 242, 145-160 (2005).
- [131] Hellborg R. and Skog G. *Accelerator Mass Spectrometry*. *Mass Spectrom. Rev.* 27, 398-427 (2008).
- [132] Alvarez L.W and Cornog R. *^3He in helium*. *Phy. Rev.* 56, 379 (1939).
- [133] Muller R.A. *Radioisotope dating with a cyclotron*. *Science.* 196, 489-494 (1977).

- [134] Muller R.A., Alvarez L.A., Holley W.R and Stephenson E.J. Quarks with unit change. A search for anomalous hydrogen. *Science*. 196, 521-523 (1977).
- [135] Suter M. *25 years of AMS – a review of recent developments*. Nucl. Instr. and Meth. B. 223-224, 139-148 (2004).
- [136] Suter M., Döbeli M., Grajcar M., Müller A., Stocker M., Sun G., Hans-Arno Synal and Wacker L. *Advances in particle identification in AMS at low energies*. Nucl. Instr. and Meth. B. 259, 165-172 (2007).
- [137] Chamizo E., López-Gutiérrez J.M., Ruiz-Gómez A., Santos F.J., García-León M., Maden C and Alfimov V. *Status of the compact 1 MV AMS facility at the Centro Nacional de Aceleradores (Spain)*. Nucl. Instr. and Meth. B. 266 (10), 2217-2220 (2008).
- [138] Brown T.A., Marchetti A.A., Martinelli R.E., Cox C.C., Knezovich J.P and Hamilton T.F. *Actinide measurements by accelerator mass spectrometry at Lawrence Livermore National Laboratory*. Nucl. Instr. and Meth. B. 223, 788-795 (2004).
- [139] Hernández-Mendoza H., Chamizo E., Yllera A., García-León M and Delgado A. *A highly sensitive method for the reassessment and quantification of ^{239}Pu in urine samples based on a 1 MV accelerator mass spectrometry system*. J. Anal. At. Spectrom. 2010 In press. DOI: 10.1039/c002420a
- [140] Chamizo E., Enamorado S.M., Garcia-Leon M., Suter M and Wacker L. *Plutonium measurements on the 1 MV AMS system at the Centro Nacional de Aceleradores (CNA)*. Nucl. Instr. and Meth. B. 266 (22), 4948-4954 (2008).
- [141] Chamizo E., Jimenez-Ramos M.C., Wacker L., Vioque I., Calleja A., Garcia-Leon M and Garcia-Tenorio R. *Isolation of Pu-isotopes from environmental samples using ion chromatography for accelerator mass spectrometry and alpha spectrometry*. Anal. Chem. Acta. 606 (2), 239-245 (2008).
- [142] Erdmann N., Herrmann G., Huber G., Kohler S., Kratz J.V., Mansel A., Nunnemann M., Passler G., Trautmann N., Turchin A and Waldek A. *Resonance ionization mass spectroscopy for trace determination of*

- plutonium in environmental samples*. Fresen. J. Anal. Chem. 359 (4-5) 378-381 (1997).
- [143] Nunnemann M., Erdmann N., Hasse H.U., Huber G., Kratz J.V., Kunz P., Mansel A., Passler G., Stetzer O., Trautmann N AND Waldek A. *Trace analysis of plutonium in environmental samples by resonance ionization mass spectroscopy (RIMS)*. J. Alloys. Comp. 271, 45-48 (1998).
- [144] Carbol P., Solatie D., Erdmann N., Nylen T and Betti M. *Deposition and distribution of Chernobyl fallout fission products and actinides in a Russian soil profile*. J. Environ. Radioact. 68 (1), 27-46 (2003).
- [145] Ranebo Y., Eriksson M., Tamborini G., Niagolova N., Bildstein O and Betti M. *The use of SIMS and SEM for the characterization of individual particles with a matrix originating from a nuclear weapon*. Microscopy and Microanalysis. 13 (3), 179-190 (2007).
- [146] Buerger S., Banik N.L., Buda R.A., Kratz J.V., Kuczewski B and Trautmann N. *Speciation of the oxidation states of plutonium in aqueous solutions by UV/Vis spectroscopy, CE-ICP-MS and CE-RIMS*. Radiochim. Acta. 95 (8), 433-438 (2007).
- [147] Tamborini G and Betti M. *Characterisation of radioactive particles by SIMS*. Mikrochimica. Acta. 132 (2-4), 411-417 (2000).
- [148] Betti M., Tamborini G and Koch L. *Use of secondary ion mass spectrometry in nuclear forensic analysis for the characterization of plutonium and highly enriched uranium particles*. Ana. Chem. 71 (14), 2616-2622 (1999).
- [149] Betti M., Giannarelli S., Hiernaut T., Rasmussen G and Koch L. *Detection of trace radioisotopes in soil, sediment and vegetation by glow discharge mass spectrometry*. Fresen. J. Anal. Chem. 355 (5-6) 642-646 (1996).
- [150] Betti M., Rasmussen G and Koch L. *Isotopic abundance measurements on solid nuclear-type samples by glow discharge mass spectrometry*. Fresen. J. Anal. Chem. 355 (7-8) 808-812 (1996).
- [151] Pilon F., Lorthioir S., Birolleau J.C and Lafontan S. *Determination of trace elements in radioactive and toxic materials by inductively coupled plasma mass spectrometry*. J. Mass. Spectrom. 11 (9), 759-764 (1996).

- [152] Laboratorio de Bioeliminación del Proyecto Dosimetría de las Radiaciones. CIEMAT, Madrid, Spain. *Realización de los Controles Dosimétrico Internos CIEMAT*. PR-X7-10. Revision 3, 4-12 (1996).
- [153] Laboratorio de Bioeliminación del Proyecto Dosimetría de las Radiaciones. CIEMAT, Madrid, Spain. *Toma de muestras y tratamiento de excretas para su transporte hasta el servicio de Dosimetría Interna*. PE-IA-DR-15. Revision 0, 4-10 (2002).
- [154] ICRP (International Commission on Radiological Protection). Ann. ICRP Publication 89 (Oxford: Pergamon Press), **32(3-4)**, 1-278 (2002).
- [155] Laboratorio de Bioeliminación del Proyecto Dosimetría de las Radiaciones. CIEMAT, Madrid, Spain. *Recensión y aceptación de muestra biológicas: determinación de creatinina*. PTBIO20. Revision 1, 2-15 (2010).
- [156] Laboratorio de Bioeliminación del Proyecto Dosimetría de las Radiaciones. CIEMAT, Madrid, Spain. *Determinación de Plutonio ($^{239+240}\text{Pu}$ y ^{238}Pu) en Muestra de Orina mediante Espectrometría Alfa en el Servicio de Dosimetría Interna CIEMAT*. PE-IA-DR-03. Revision 0, 1-14 (1999).
- [157] Hallstadius L. *Method for the Electrodeposition of Actinides*. NIMPhs. Res. 223, 266-267 (1984).
- [158] Indirect Methods for Measuring Radionuclides in the Human Body. Safety Series Report, 1998.
- [159] Standard Performance Criteria for Radiobioassay. Health Physics Society. Draft Standard ANSIN 13.30, 1995.
- [160] Currie L.A. *Limits for Qualitative Detection and Quantitative Determination*. Anal. Chem. **40**, 586-593 (1968).
- [161] K. Duke. *Use of the urinary excretion of creatinine in plutonium in urine bioassay*. Radiat. Prot. Dosim. 79 (1-2), 125-128 (1998).
- [162] Marco R., Katorza E., Gonen R., German U., Tshuva A., Pelled O., Paz-Tal O., Adout A and Karpas Z. *Normalisation of spot urine samples to 24-H collection for assessment of exposure to uranium*. Radiat. Prot. Dosim. 2007, 1-11.

- [163] Chamizo E. *Ph. D. Thesis*, Departamento de Física Atómica, Molecular y Nuclear, Universidad de Sevilla (2009).

ANEXOS

ANEXO 1: Definiciones

BOE núm. 178 Jueves 26 julio 2001 27299

Actividad (A): la actividad A de una cantidad de un radionucleido en un determinado estado energético en un momento dado es el cociente entre dN y dt , donde dN es el valor esperado del número de transformaciones nucleares espontáneas que se producen desde dicho estado energético en el intervalo de tiempo dt

$$A = \frac{dN}{dt}$$

La unidad de actividad es el bequerelio (Bq). Un bequerelio es igual a una transformación por segundo $1\text{Bq} = 1\text{ s}^{-1}$

Año oficial: período de doce meses, a contar desde el día 1 de enero hasta el 31 de diciembre, ambos inclusive.

Autoridad competente: organismo oficial al que corresponde, en el ejercicio de las funciones que tenga atribuidas, conceder autorizaciones, dictar disposiciones o resoluciones y obligar a su cumplimiento.

Autorización: permiso concedido por la autoridad competente de forma documental, previa solicitud, o establecido por la legislación española, para ejercer una práctica o cualquier otra actuación dentro del ámbito de aplicación de este Reglamento.

Calibración: conjunto de operaciones efectuadas por laboratorios debidamente cualificados, mediante las que se pueden establecer, en condiciones específicas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o un sistema de medida, o los valores representados por una medida material, y los correspondientes valores conocidos de un mensurando.

Contaminación radiactiva: presencia indeseable de sustancias radiactivas en una materia, una superficie, un medio cualquiera o una persona. En el caso

particular del organismo humano, esta contaminación puede ser externa o cutánea, cuando se ha depositado en la superficie exterior, o interna cuando los radionucleidos han penetrado en el organismo por cualquier vía (inhalación, ingestión, percutánea, etc.)

Corteza terrestre no alterada: cualquier parte de la corteza terrestre en la que no se exploten canteras ni minas subterráneas o a cielo abierto (la superficie de un yacimiento de uranio que nunca ha sido explotado se considerará corteza terrestre no alterada). No se considerará que las operaciones de labranza, excavación o nivelación de terreno derivadas de actividades agrícolas o de construcción «alteren» la corteza terrestre salvo cuando tales operaciones formen parte de obras de restauración de tierras contaminadas.

Declaración: obligación de presentar un documento a la autoridad competente para notificar la intención de llevar a cabo una práctica o cualquier otra actuación dentro del ámbito de aplicación de este Reglamento.

Detrimento de la salud: estimación del riesgo de reducción de la duración o de la calidad de vida en un segmento de la población tras haberse visto expuesta a radiaciones ionizantes. Se incluyen las pérdidas debidas a efectos somáticos, cáncer y alteraciones genéticas graves.

Dosis absorbida (D): la energía absorbida por unidad de masa

$$D = \frac{d\varepsilon}{dm}$$

donde, $d\varepsilon$ es la energía media impartida por la radiación ionizante a la materia en un elemento de volumen y dm es la masa de la materia contenida en dicho elemento de volumen.

En el presente Reglamento la dosis absorbida indica la dosis promediada sobre un tejido u órgano. La unidad de dosis absorbida es el Gray (Gy).

Dosis efectiva (E): suma de las dosis equivalentes ponderadas en todos los tejidos y órganos del cuerpo que se especifican en el anexo II a causa de irradiaciones internas y externas. Se estima mediante la fórmula.

$$E = \sum_T W_T H_T = \sum_T W_T \sum_R W_R D_{T,R}$$

donde, $D_{T,R}$ es la dosis absorbida promediada sobre el tejido u órgano T procedente de la radiación R; W_R es el factor de ponderación de la radiación, y w_T es el factor de ponderación tisular del tejido u órgano T. Los valores adecuados para w_T y w_R se especifican en el anexo II. La unidad para la dosis efectiva es el Sievert (Sv).

Dosis equivalente (H_T): dosis absorbida, en el tejido u órgano T, ponderada en función del tipo y la calidad de la radiación R. Viene dada por la fórmula

$$H_{T,R} = W_R D_{T,R}$$

siendo, $D_{T,R}$ la dosis absorbida promediada sobre el tejido u órgano T, procedente de la radiación R, y w_R el factor de ponderación de la radiación. Cuando el campo de radiación se compone de tipos y energías con valores diferentes de w_R la dosis equivalente total, H_T viene dada por la fórmula.

$$H_T = \sum_R W_R D_{T,R}$$

Los valores apropiados para w_R se especifican en el anexo II. La unidad para la dosis equivalente es el Sievert.

Dosis efectiva comprometida [$E(\tau)$]: suma de las dosis equivalentes comprometidas en un tejido u órgano $H_T(\tau)$ como resultado de una incorporación, multiplicada cada una de ellas por el factor de ponderación tisular correspondiente w_T . Se define por la fórmula

$$E_\tau = \sum_T W_T H_T(\tau)$$

Al especificar $E(\tau)$, τ viene dado en años. Cuando no se especifica el valor de τ , se sobreentiende un período de cincuenta años para los adultos o de un máximo de setenta años para los niños. La unidad para la dosis efectiva comprometida es el Sievert.

Dosis equivalente comprometida [$H_T(\tau)$]: Integral respecto al tiempo s de la tasa de dosis equivalente en un tejido u órgano T que recibirá un individuo como consecuencia de una incorporación. Se define por la fórmula.

$$H_T(\tau) = \int_{t_0}^{t_0+\tau} \dot{H}_T(t) dt$$

para una incorporación en un tiempo t_0 , siendo, $H_T(t)$ la tasa de dosis equivalente correspondiente en el órgano o tejido T en el tiempo t y s el período durante el cual la integración se lleva a cabo. Al especificar $H_T(\tau)$, τ viene dado en años. Cuando no se especifica el valor de s , se sobreentiende un período de cincuenta años para los adultos o de un máximo de setenta años para los niños. La unidad para la dosis equivalente comprometida es el Sievert. Efluentes radiactivos: productos radiactivos residuales en forma líquida o gaseosa.

Eliminación: ubicación de los residuos en un emplazamiento determinado cuando no exista intención de recuperación de los mismos. La eliminación comprende también la evacuación directa de residuos en el medio ambiente, previa autorización, y su consiguiente dispersión.

Emergencia radiológica: situación que requiere medidas urgentes con el fin de proteger a los trabajadores, a los miembros del público o a la población, en parte o en su conjunto.

Empresa externa: cualquier persona física o jurídica, distinta del titular de la instalación, que haya de efectuar actividades de cualquier tipo en una zona controlada de una instalación nuclear o radiactiva.

Exposición: acción y efecto de someter a las personas a las radiaciones ionizantes.

Exposición accidental: exposición de personas como resultado de un accidente, aunque no dé lugar a superación de alguno de los límites de dosis establecidos. No incluye la exposición de emergencia.

Exposición de emergencia: exposición voluntaria de personas que realizan una acción urgente necesaria para prestar ayuda a personas en peligro, prevenir la exposición de un gran número de personas o para salvar una

instalación o bienes valiosos, que podría implicar la superación de alguno de los límites de dosis individuales establecidos para los trabajadores expuestos.

Exposición externa: exposición del organismo a fuentes exteriores a él.

Exposición interna: exposición del organismo a fuentes interiores a él.

Exposición ocupacional: exposición de los trabajadores durante el desarrollo de su trabajo, con la excepción de las exposiciones excluidas del alcance de este Reglamento y las procedentes de fuentes y prácticas exentas de declaración y autorización según la legislación aplicable.

Exposición parcial: exposición localizada esencialmente sobre una parte del organismo o sobre uno o más órganos o tejidos, o la exposición del cuerpo entero considerada como no homogénea.

Exposición perdurable: exposición resultante de los efectos residuales de una emergencia radiológica o del ejercicio de una práctica o actividad laboral del pasado.

Exposición potencial: exposición que no se prevé que se produzca con seguridad, sino con una probabilidad de ocurrencia que puede estimarse con antelación.

Fondo radiactivo natural: conjunto de radiaciones ionizantes que provienen de fuentes naturales terrestres o cósmicas (en la medida en que la exposición que de ellas resulte no se vea aumentada de manera significativa por la acción humana).

Fuente: aparato, sustancia radiactiva o instalación capaz de emitir radiaciones ionizantes o sustancias radiactivas.

Fuentes artificiales: fuentes de radiación distintas de las fuentes naturales de radiación.

Fuentes naturales de radiación: fuentes de radiación ionizante de origen natural, terrestre o cósmico. Gray (Gy): nombre especial de la unidad de dosis absorbida. Un gray es igual a un julio por kilogramo:

$$1\text{Gy} = 1 \text{ J kg}^{-1}$$

Grupo de referencia de la población: grupo que incluye a personas cuya exposición a una fuente es razonablemente homogénea y representativa de la de las personas de la población más expuestas a dicha fuente.

Incorporación: actividad de radionucleidos que se introducen en el organismo procedente del medio externo.

Intervención: actividad humana que evita o reduce la exposición de las personas a la radiación procedente de fuentes que no son parte de una práctica o que están fuera de control, actuando sobre las fuentes, las vías de transferencia y las propias personas.

Jefe de Servicio o Unidad Técnica de Protección Radiológica: persona responsable o al frente de un Servicio o Unidad Técnica de Protección Radiológica que será acreditada al efecto mediante diploma expedido por el Consejo de Seguridad Nuclear.

Límites de dosis: valores máximos fijados en el Título II para las dosis resultantes de la exposición de los trabajadores, personas en formación, estudiantes y miembros

del público, a las radiaciones ionizantes consideradas por el presente Reglamento.

Miembros del público: personas de la población, con excepción de los trabajadores expuestos, las personas en formación y los estudiantes durante sus horas de trabajo, así como personas durante la exposición a que se refieren los párrafos a), b) y c) del apartado 4 del artículo 4.

Nivel de intervención: valor de la dosis equivalente evitable, la dosis efectiva evitable o valor derivado, a partir del cual debe considerarse la adopción de medidas de intervención. El valor de dosis evitable o derivado es únicamente el relacionado con la vía de exposición al que deberá aplicarse la medida de intervención.

Persona en formación o estudiante: a los efectos de este Reglamento, toda persona que, no siendo trabajador, recibe formación o instrucción en el seno o fuera de una empresa para ejercer un oficio o profesión, relacionado directa o indirectamente con actividades que pudieran implicar exposición a radiaciones ionizantes.

Población en su conjunto: toda la población comprendiendo los trabajadores expuestos, los estudiantes y las personas en formación, y los miembros del público.

Práctica: actividad humana que puede aumentar la exposición de las personas a la radiación procedente de una fuente artificial, o de una fuente natural de radiación cuando los radionucleidos naturales son procesados por sus propiedades radiactivas, fisionables o fértiles, excepto en el caso de exposición de emergencia.

Promotor: persona física o jurídica que por vez primera en el país pretende realizar una nueva práctica.

Radiación ionizante: transferencia de energía en forma de partículas u ondas electromagnéticas de una longitud de onda igual o inferior a 100 nanómetros o una frecuencia igual o superior a 3×10^{15} hertzios, capaces de producir iones directa o indirectamente.

Residuo radiactivo: cualquier material o producto de desecho, para el que no está previsto ningún uso, que contiene o está contaminado con radionucleidos en concentraciones o niveles de actividad superiores a los establecidos por el Ministerio de Economía previo informe favorable del Consejo de Seguridad Nuclear.

Restricción de dosis: restricción de los valores de dosis individuales esperables que puedan derivarse de una fuente determinada, para su uso en la fase de planificación de la protección radiológica, en cualquier circunstancia en que deba considerarse la optimización.

Servicio de Dosimetría Personal: entidad responsable de la lectura o interpretación de aparatos de vigilancia individual, o de la medición de radiactividad en el cuerpo humano o en muestras biológicas, o de la evaluación de las dosis, cuya capacidad para actuar al respecto sea reconocida por el Consejo de Seguridad Nuclear. **Servicio y Unidad Técnica de Protección Radiológica:** entidad expresamente autorizada por el Consejo de Seguridad Nuclear para desempeñar las funciones establecidas en el presente Reglamento. El Servicio de Protección Radiológica es una entidad propia de un titular o mancomunada por varios titulares, mientras que la Unidad Técnica de Protección Radiológica es una entidad ajena contratada por el titular.

Sievert (Sv): nombre especial de la unidad de dosis efectiva y equivalente. Un Sievert es igual a un julio por kilogramo:

$$1 \text{ Sv} = 1 \text{ J kg}^{-1}$$

Supervisor: persona provista de licencia específica concedida por el Consejo de Seguridad Nuclear, que capacita para dirigir el funcionamiento de una instalación nuclear o radiactiva y las actividades de manipulación de los dispositivos de control y protección de la instalación. Todo ello según lo dispuesto en el Real Decreto

1836/1999, de 3 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento sobre Instalaciones Nucleares y Radiactivas.

Sustancia radiactiva: sustancia que contiene uno o más radionucleidos, y cuya actividad o concentración no pueda considerarse despreciable desde el punto de vista de la protección radiológica.

Técnico experto en Protección Radiológica: persona debidamente cualificada, que forma parte de un Servicio o Unidad Técnica de Protección Radiológica y que bajo la dirección del Jefe de Servicio o Unidad Técnica de Protección Radiológica realiza las actividades propias de dicho Servicio o Unidad.

Titular: persona física o jurídica que tiene, con arreglo a la legislación nacional, la responsabilidad y la autoridad sobre el ejercicio de alguna de las prácticas o actividades laborales previstas en el artículo 2 del presente Reglamento.

Trabajadores expuestos: personas sometidas a una exposición a causa de su trabajo derivada de las prácticas a las que se refiere el presente Reglamento que pudieran entrañar dosis superiores a alguno de los límites de dosis para miembros del público.

Trabajadores externos: cualquier trabajador clasificado como trabajador expuesto, que efectúe actividades de cualquier tipo, en la zona controlada de una instalación nuclear o radiactiva y que esté empleado de forma temporal o permanente por una empresa externa, incluidos los trabajadores en prácticas profesionales, personas en formación o estudiantes, o que preste sus servicios en calidad de trabajador por cuenta propia.

Zona controlada: zona sometida a regulación especial a efectos de protección contra las radiaciones ionizantes.

Zona vigilada: zona sometida a una adecuada vigilancia a efectos de protección contra las radiaciones ionizantes.

ANEXO II: Estimación de dosis por exposición externa

BOE núm. 178 Jueves 26 julio 2001 27299

A) Definición de los términos utilizados en el presente anexo

Dosis equivalente ambiental H^* (d): dosis equivalente en un punto determinado de un campo de radiación que sería producida por el correspondiente campo expandido y alineado en la esfera ICRU, a una profundidad «d», sobre el radio opuesto a la dirección del campo alineado. El nombre especial de la unidad de la dosis equivalente ambiental es el Sievert (Sv).

Dosis equivalente direccional H' (d, Ω): dosis equivalente en un punto determinado de un campo de radiación que sería producida por el correspondiente campo expandido en la esfera ICRU, a una profundidad «d», sobre un radio en una dirección especificada, Ω . El nombre especial de la unidad de la dosis equivalente direccional es el Sievert (Sv).

Campo expandido y alineado: campo de radiación en el que la fluencia y sus distribuciones direccional y energética son las mismas que en el campo expandido, pero la fluencia es unidireccional.

Campo expandido: campo de radiación que se deriva del campo actual en el que la fluencia y sus distribuciones direccional y energética tienen el mismo valor a través de todo el volumen de interés que el campo de radiación real en el punto de referencia.

Fluencia Φ : es el cociente entre dN y da , donde dN es el número de partículas que entran en una esfera de una sección normal da :

$$\Phi = \frac{dN}{da}$$

Factor de calidad medio (\bar{Q}): valor medio del factor de calidad en un punto en un tejido en el que la dosis absorbida es transmitida por partículas con valores diferentes de L. Se calcula de acuerdo con la expresión:

$$\bar{Q} = 1/\bar{D} \int_0^{\infty} Q(L)D(L)dL$$

donde $D(L)dL$ es la dosis absorbida a 10 mm entre las transferencias lineales de energía L y $L + dL$; y $Q(L)$ es el correspondiente factor de calidad en el punto de interés. Las relaciones Q-L se indican en el apartado C).

Dosis equivalente personal Hp (d): dosis equivalente en tejidos blandos a una profundidad adecuada «d», por debajo de un punto determinado del cuerpo. El nombre especial de la unidad de dosis equivalente personal es el Sievert (Sv).

Factor de calidad (Q): una función de la transferencia lineal de energía (L) que se utiliza para ponderar la dosis absorbida en un punto, de forma tal que pueda tenerse en cuenta la calidad de la radiación.

Factor de ponderación de la radiación (w_R): factor adimensional que se utiliza para ponderar la dosis absorbida en un tejido u órgano. Los valores apropiados de w_R se especifican en el apartado B).

Dosis absorbida en un órgano o tejido (D_T): es el cociente entre la energía total comunicada a un órgano o tejido (T) y la masa de dicho órgano o tejido.

Factor de ponderación de los tejidos (w_T): factor adimensional que se utiliza para ponderar la dosis equivalente en un tejido u órgano (T). Los valores apropiados de w_T se especifican en el apartado D).

Transferencia lineal de energía no restringida (L_∞): es una magnitud definida como:

$$L_{\infty} = \frac{dE}{dL}$$

donde dE es la energía media perdida por una partícula cargada de energía E al atravesar una distancia dL en el agua. En el Reglamento se denominará L a L_{∞} .

Esfera ICRU: cuerpo introducido por el Comité Internacional de Unidades y Medidas Radiológicas (ICRU) para aproximar el cuerpo humano en lo relativo a la absorción

de energía de las radiaciones ionizantes. Consiste en una esfera de 30 cm de diámetro de material equivalente a tejido con una densidad de 1 g cm⁻³ y una masa compuesta por 76,2 por 100 de oxígeno, 11,1 por 100 de carbono, 10,1 por 100 de hidrógeno y 2,6 por 100 de nitrógeno.

B) Valores del factor de ponderación de la radiación, w_R

Los valores del factor de ponderación de la radiación, w_R dependen del tipo y de la calidad del campo de radiación externo o del tipo y de la calidad de la radiación emitida por un radionucleido depositado internamente. Cuando el campo de radiación se compone de tipos y energías con diferentes valores de w_R , la dosis absorbida se subdividirá en bloques, cada uno de ellos con su propio valor de w_R que se sumarán para obtener la dosis equivalente total. Alternativamente, la dosis equivalente se podrá expresar como una distribución continua en energía en la que cada elemento de dosis absorbida del elemento de energía entre E y $E + dE$ se multiplica por el valor de w_R correspondiente de la tabla que se expone a continuación.

Tipo y rango de energía	Factor de ponderación de la radiación, w_R
Fotones, todas las energías	1
Electrones y muones, todas las energías	1
Neutrones, energía R 10 keV	5
T 10 keV a 100 keV	10
T 100 keV a 2 MeV	20
T 2 MeV a 20 MeV	10
T 20 MeV	5
Protones, salvo los de retroceso, de energía T 2 MeV	5
Partículas alfa, fragmentos de fisión, núcleos pesados	20

En los cálculos relativos a neutrones, pueden surgir dificultades al aplicar valores de la función en escalón. En estos casos, puede resultar preferible utilizar la función continua que se describe en la siguiente relación matemática:

$$WR = 5 + 17e^{-(\ln(2E))^{2/6}}$$

donde E es la energía del neutrón en MeV. La figura 1 representa una comparación de los dos enfoques

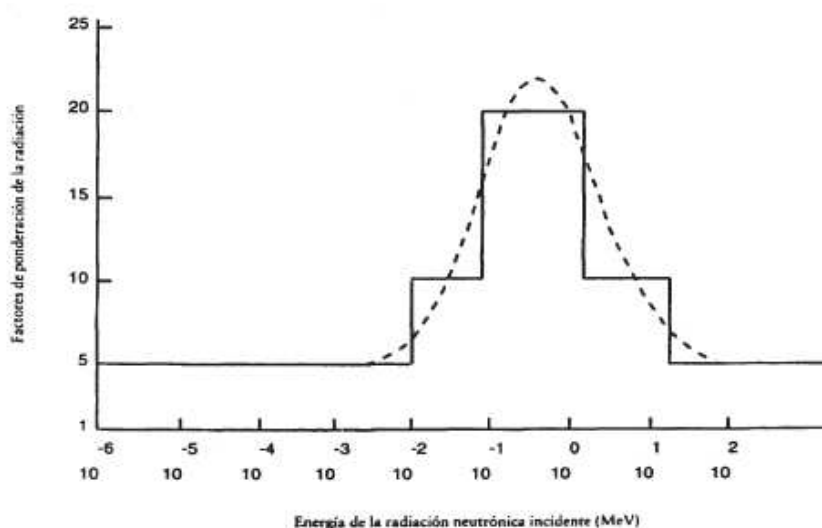


Figura 1

Factor de ponderación de la radiación para neutrones. La curva en línea discontinua debe tratarse como una aproximación.

Para tipos y energías de radiación que no se incluyen en la tabla, puede obtenerse una aproximación de wR calculando el factor de calidad medio \bar{Q} a una profundidad de 10 mm en la esfera ICRU.

C) Relación entre el factor de calidad, Q(L), y la transferencia lineal de energía no restringida, L

Transferencia lineal de energía no restringida, L, en agua ($\text{keV } \mu\text{m}^{-1}$)	Q(L)
R 10 10-100 T 100	$\frac{1}{0,32L-2,2}$ $300 / \sqrt{L}$

D) Valores del factor de ponderación de los tejidos, w_T (*)

Los valores del factor de ponderación de los tejidos, w_T , se enumeran a continuación:

Tejido u órgano	Factores de ponderación de los tejidos, w_T
Gónadas	0,20
Médula ósea (roja)	0,12
Colon	0,12
Pulmón	0,12
Estómago	0,12
Vejiga	0,05
Mama	0,05
Hígado	0,05
Esófago	0,05
Tiroides	0,05
Piel	0,01
Superficie de los huesos	0,01
Resto del organismo	0,05 (**) (***)

(*) Los valores se han calculado a partir de una población con igual número de personas de ambos sexos y una amplia gama de edades. En la definición de la dosis efectiva, estos valores se aplican a trabajadores, a toda la población y a ambos sexos.

(**) A efectos de cálculo, el resto del organismo se compone de los tejidos y órganos adicionales siguientes: glándulas suprarrenales, cerebro, intestino grueso superior, intestino delgado, riñón, músculos, páncreas, bazo, timo y útero. En la lista se incluyen órganos que pueden ser irradiados de manera selectiva. Se sabe que algunos órganos de la lista son susceptibles a la inducción de cáncer. Si posteriormente se identificaran otros tejidos y órganos con un riesgo significativo a la inducción de cáncer, se incluirán en la tabla con un w_T específico o en esta lista adicional que constituye el resto del organismo. Este último también puede incluir otros tejidos u órganos irradiados selectivamente.

(***) En aquellos casos excepcionales en los que uno cualquiera de los tejidos u órganos del resto del organismo reciba una dosis equivalente superior a la dosis más elevada de cualquiera de los doce órganos listados para los que se ha especificado un factor de ponderación, se aplicará un factor de ponderación de 0,025 a dicho órgano o tejido y un factor de ponderación de 0,025 a la dosis media en los restantes órganos y tejidos del resto del organismo, tal y como se ha definido anteriormente.

